

SÉRIE A, N° 3360

N° D'ORDRE :

4232

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

MICHELINE BROUST née BOURNAZEL

1^{re} THÈSE. — EMPLOI DE LA DIPROPYNYLCÉTONE POUR LA
CARACTÉRISATION DES ACIDES AMINÉS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 17 mai 1957 devant la Commission d'examen.

MM. PRÉVOST.....	<i>Président.</i>
NORMANT.....	} <i>Examineurs.</i>
BARCHEWITZ	

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1960

SÉRIE A, N° 3360

N° D'ORDRE :

4232

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

MICHELINE BROUST née BOURNAZEL

1^{re} THÈSE. — EMPLOI DE LA DIPROPYNYLCÉTONE POUR LA
CARACTÉRISATION DES ACIDES AMINÉS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 17 mai 1957 devant la Commission d'examen.

MM. PRÉVOST..... *Président.*

NORMANT..... }
BARCHEWITZ } *Examineurs.*

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1960

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen J. PÉRÈS

PROFESSEURS

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	QUELET	T	Chimie organique.
DE BROGLIE	T	Théories physiques.	CAGNIAUD	T	Géophysique appliquée
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.	CHAMPETIER	T	Chimie macromolécul.
PÉRÈS	T	Mécanique des fluides et applications.	CUVILLIER	T	Micropaléontologie.
BARRABÉ	T	Géologie structurale et Géologie appliquée.	JUNG	T	Pétrographie.
BOURCART	T	Géographie physique et Géologie dynamique.	TRILLAT	T	Microscopie et diffract. électronique.
PLANTEFOL	T	Botanique.	WIRMANN	T	Chimie organique et structurale.
GRASSÉ	T	Évolution des êtres organisés.	JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste.
PRÉVOST	T	Chimie organique.	VASSY	T	Physique de l'atmosphère.
BOULGAND	T	Application de l'analyse à la Géométrie.	DESTOUCHES	T	Théories physiques.
CHAUDRON	T	Chimie appliquée.	PRUVOST	T	Géologie.
WYART	T	Minéralogie.	AMIEL	T	Chimie générale.
TEISSIER	T	Zoologie.	HOCART	T	Minéralogie.
MANGENOT	T	Biologie végétale.	J.-P. MATHIEU	T	Physique (Orsay).
P. AUGER	T	Physique quantique et Relativité.	COUTEAUX	T	Biol. animale (P.C.B.).
MONNIER	T	Physiologie générale.	MAY	T	Zoologie (Orsay).
PIVETEAU	T	Paléontologie.	CHOQUET	T	Théor. des fonctions et Topologie.
ROCARD	T	Physique (E.N.S.).	FELDMANN	T	Biol. végétale marine.
H. CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.).	GUINIER	T	Physique des Solides.
LAFFITTE	T	Chimie générale.	JOST	T	Physiologie comparée.
FAVARD	T	Géométrie supérieure.	FORTET	T	Calcul des prob. et physique mathématique.
COULOMB	T	Physique du Globe.	SCHWARTZ	T	Calc. diff. et Intégr.
M ^{lle} COUSIN	T	Biol. animale (S.P.C.N.).	CHOUARD	T	Physiologie végétale.
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.	MALAYARD	T	Aviation.
P. DRACH	T	Zoologie.	BRELOT	T	Calcul différentiel.
KASTLER	T	Physique (E.N.S.).	NORMANT	T	Synthèse organique.
EPHROSSI	T	Génétique.	BÉNARD	T	Chimie minérale.
WURMSER	T	Biologie physico-chimique.	BUYAT	T	Botanique (E.N.S.).
RIVIÈRE	T	Géol. (S.P.C.N.) (Orsay).	DUGUÉ	T	Statistiques mathém.
GAUTHERET	T	Biol. végétale (P.C.B.).	GELOSO	T	Chimie (S.P.C.N.).
LI CAS	T	Recherches physiques.	SOULAIRAC	T	Psychophysicologie.
A. THOMAS	T	Biol. cellulaire.	ULRICH	T	Physiologie végétale.
ARNULF	T	Optique appliquée.	MARÉCHAL	T	Optique théorique et appliquée.
M. MORAND	T	Enseignement de Physique.	KIRHMANN	T	Théories chimiques.
SOLEILLET	T	Physique (P.C.B.).	CHADEFAUD	T	Botanique.
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des fluides.	M ^{lle} LE BRETON	T	Physiol. générale.
DANJON	T	Astronomie.	SALEM	T	Mathématiques générales.
PÉTIIT	T	Biologie maritime.	LELONG	T	Mathématiques générales.
QUÉNEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique.	DEVILLERS	T	Anatomie et Histologie comparées.
GALLIEN	T	Embryologie.	EBRESMANN	T	Topologie algébrique.
EICHORN	T	Biol. végétale (S.P.C.N.).	FRANÇON	T	Physique (S.P.C.N.).
DE CUGNAC	T	Biol. végétale (S.P.C.N.).	GLANGEAUD	T	Géogr. physique et Géologie dynamique.
M ^{lle} CAUCHOIS	T	Chimie physique.	GODEMENT	T	Mathématiques (M.G.P.).
THÉLLIER	T	Physique du Globe.	PISOT	T	Techniques mathém. de la Physique.
L'HÉRITIER	T	Génétique.	E. ROCH	T	Géologie.
GRUYET	T	Radioélectricité.	SCHATZMANN	T	Astrophysique.
PONCIN	T	Mécanique générale.	TERMIER	T	Paléontologie stratigraphique.
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres.	ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
			LENNUIER	T	Physique (M.G.P.).
			RIZET		Génétique.



PROFESSEURS (suite)

ROUTHIER	T	Géologie appliquée.	BERTHELOT	Physique nucléaire et Radioactivité.
M ^{me} TONNELAT	T	Relativité.	BRICARD	Météorologie et Physique de l'atmosphère.
DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.).	M ^{me} ALBE-FESSARD.	Psychophysiol.
SOUCHAY	T	Chimie générale.	FRIEDEL	Physique des Solides.
AIGRAIN	T	Électrotechn. générale.	M. JULIA	Étude des molécules organiques complexes.
BRUSSET		Chimie minérale.	LENDER	Biol. animale (S.P.C.N.) (Orsay).
M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies.	MAGAT	Physico-chim. des rayonnements.
M ^{me} CHAIX		Chimie biologique.	M ^{lle} QUINTIN	T Electrochimie.
M ^{me} HUREL-PY		Biol. vég. (P.C.B.).	MONOD	T Chimie du métabolisme.
PIAUX		Chimie (M.P.C.).	BENOIT	T Physiologie animale.
BRUN	T	Mécanique expér. des Fluides.	DE POSSEL	T Analyse numérique.
LÉDERER	T	Chimie biologique.	CHARLOT	T Chimie analytique.
M ^{me} DUBREIL	T	Mathématiques.	HAÏSSINSKY	T Radiochimie.
M ^{me} LELONG	T	Mathém. (E.N.S.).	LEMÉE	T Physiologie (B.M.P.V.)
BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.).	GUÉRIN	T Chimie (M.P.C.N.).
COTTE	T	Physique (Orsay).	M. CHATELET	Chimie (S.P.C.N.).
J. E. DUBOIS	T	Chimie organique.	JEAN	Physique nucléaire et radioactivité.
LAMOTTE		Zoologie (E.N.S.).	MATTLER	Physique (S.P.C.N.).
André MICHEL	T	Chimie (S.P.C.N.).	LOUIS MICHEL	Physique théorique des hautes énergies.
OLMER	T	Énergétique générale.	RUMPF	Chimie (P.C.B.).
ROUAULT	T	Physique générale.	BERGERARD	Zoologie (Orsay).
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.	BERTIN	Électronique.
BARCHIEWITZ	T	Chimie physique.	BOUSSIÈRES	Chimie des Radioéléments.
BROSSEL	T	Physique atomique.	M ^{me} COUTURE	Physique (P.C.B.).
BUSER		Physiologie comparée.	ELLENBERGER	Géologie structurale et Géologie appliquée.
CAMUS		Physiol. vég. (3 ^e cycle).	FRANC	Biologie animale.
CASTAING		Physique générale.	SCHNELL	Botanique tropicale.
CURIE		Minéralogie et Cristallographie.	STOLKOWSKI	Physiologie générale.
MOYSE	T	Physiol. vég. (Orsay).	ACHER	Chimie biolog. (Orsay).
PANNETIER		Chimie (S.P.C.N.).	BAUDOIN	Biologie animale (P.C.B.).
POSSOMPES	T	Zoologie.	BEAUMONT	Biol. animale (S.P.C.N.).
PULLMANN		Chimie théorique.	BLAMONT	Géophysique Ionosphère.
TEILLAC		Physique nucléaire et Radioactivité.	BOURREAU	Biol. végétale (S.P.C.N.) (Orsay).
TONNELAT		Biol. physico-chimique.	D. CURIE	Physique (M.G.P.).
VILLE	T	Économétrie.	DURAND-DELGA ...	Géologie.
WILLEMART		Chimie (P.C.B.).	FRÉON	Chimie (P.C.B.).
Dodé	T	Chimie (S.P.C.N.) (Orsay).	HELLER	Physiologie végétale.
FREYMANN	T	Physique générale.	TORTRAT	Calcul des probabilités.
GUINOCHET	T	Biol. vég. (Orsay).	CAILLEUX	Géologie (S.P.C.N.).
ROLLET	T	Chimie (P.C.B.).	MAGNAN	Physique (M.P.C.).
M ^{lle} JOSIEN	T	Chimie (P.C.B.).	DAUDEL	Mécanique ondulatoire appliquée à la Chimie théorique et à la Physique nucléaire.
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes.	M ^{lle} FOURCROY	Biol. végétale (S.P.C.N.).
ARNOULT	T	Électronique.		
CHAPELLE	T	Physique (M.P.C.) (Orsay)		
DELANGE	T	Mathématiques (Orsay).		
DENY	T	Mathématiques (M.G.P.).		
GERMAIN	T	Mécanique théorique des fluides.		
G. LUCAS	T	Géologie.		
ALLARD		Chimie physique.		

Secrétaire Général C. MONIER

A MA MÈRE

A MON PÈRE

A MON MARI

A MA MÈRE

A MON PÈRE

A MON MARI



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Nous tenons d'abord à exprimer nos sentiments de profonde gratitude et de respectueuse reconnaissance à M. C. Prévost, Professeur à la Faculté des Sciences de Paris, à qui revient l'initiative de cette thèse, et qui fut pour nous le plus bienveillant des maîtres.

Que MM. les Professeurs Normant et Barchewitz, qui ont bien voulu juger ce travail, soient assurés de notre respectueuse reconnaissance.

Que Mlle J. Chauvelier, chef de laboratoire à la Faculté des Sciences de Paris, dont les travaux sont à l'origine de cette thèse, soit assurée de toute notre gratitude pour les conseils précieux et les encouragements qu'elle nous a toujours prodigués.

Ce travail a été, en partie, effectué dans le service de Chimie biologique de la Faculté de Médecine de Paris sous la direction de M. M. Pesson, chef de laboratoire, qui, pendant deux ans, s'est penché avec dévouement sur cette thèse. Ses conseils nous ont été particulièrement nécessaires pour parvenir aux résultats que nous avons obtenus. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre plus vive reconnaissance.

Notre respectueuse gratitude va à la mémoire de M. le Professeur Machebeuf qui a bien voulu nous accorder les plus grandes facilités de travail et nous manifester sa très grande bienveillance.

Nous adressons nos plus vifs remerciements à MM. les Professeurs Jayle et J. Polonovski, ainsi qu'à M. le Docteur D. Bertrand qui ont bien voulu nous accueillir dans leurs services et nous permettre de réaliser ce travail.

Nous remercions M. le Professeur Gautier qui a rempli avec bienveillance son rôle de parrain.

Nous ne voulons pas oublier M. Roques, chef de laboratoire à la Faculté des Sciences de Paris, dont les conseils nous ont été précieux.

Que le Centre National de la Recherche Scientifique soit assuré de notre gratitude pour l'aide matérielle qu'il nous a apportée et qui a permis la réalisation de cette thèse.

Enfin tous nos remerciements vont à nos camarades de laboratoire qui nous ont permis de travailler dans une ambiance amicale et au personnel du laboratoire de microanalyse de la Faculté de Médecine : Mme Abramson et ses collaboratrices : Mme Laurent et Mlle Brochet, qui ont effectué les analyses de substances.

EMPLOI DE LA DIPROPYNYLCÉTONE POUR LA CARACTÉRISATION DES ACIDES AMINÉS (*)

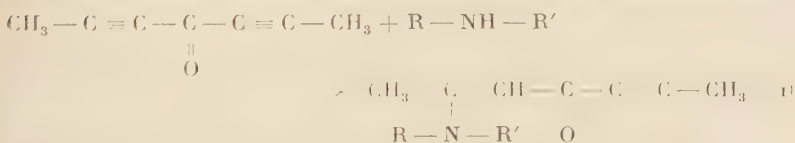
Par MICHELINE BROUST-BOURNAZEL

INTRODUCTION

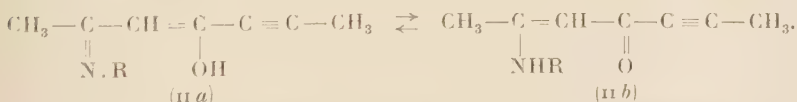
Depuis les travaux de Bowden (1), on sait que la liaison acétylénique dans les cétones α -acétyléniques est particulièrement réactive et fixe aisément les amines primaires et secondaires.

Mlle Chauvelier a étudié la réactivité des cétones α, α' -diacétyléniques en face de ces amines ; elle a pu montrer que l'une des triples liaisons est fortement activée et conduit dans des conditions douces (1° ambiante), à un produit d'addition (2).

Dans le cas d'amines secondaires, une seule structure semble possible. C'est celle de la cétone β -aminée, α -éthylénique, α' -acétylénique :



Par contre, pour les produits d'addition des amines primaires, une structure éolique paraît plus probable :



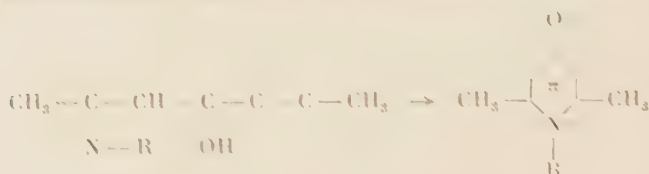
(*) Thèse présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris pour obtenir le grade de Docteur ès sciences physiques et soutenue le 17 mai 1957 devant la Commission d'examen.

(1) K. BOWDEN, E. H. BRAUDE, E. R. H. JONES et B. C. L. WEEBON, *Journ. Chem. Soc.*, 1946, 45.

J. CHAUVELIER, *Ann. Chim.*, 1948, 3, 395.

Cette réaction peut avoir lieu avec les amines grasses ou aromatiques. Cependant, les amines secondaires substituées par deux radicaux aromatiques, dont la basicité est très réduite, comme la diphenylamine, ne réagissent pas. Pour la même raison, l'urée et les amides ne donnent pas de composé d'addition avec les cétones α, α' -diacétyléniques.

En outre, le produit d'addition d'une amine primaire, chauffé à 150°, s'isomérise en une lutidone N-substituée :



Remarque. — Nous adopterons, pour représenter la lutidone, la

O

forme précédente de préférence à $\begin{array}{c} \pi \\ \diagup \diagdown \\ \text{N} \end{array}$

Pour les raisons que nous exposerons plus loin, il était particulièrement intéressant d'étudier le comportement des acides aminés en face des cétones diacétyléniques.

Une première tentative avait déjà été faite par Mlle Chauvelier⁽²⁾, qui est arrivée aux conclusions suivantes :

a) Le glycocole libre ne semble pas réagir avec la dipropynyletone. Cet échec peut probablement s'expliquer par le fait que la fonction amine des amino-acides a un caractère alcalin fortement atténué.

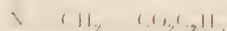
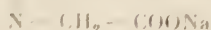
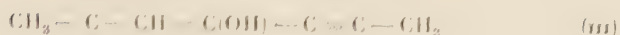
Ce résultat est en accord avec la remarque énoncée ci-dessus concernant la difficulté d'additionner les amines peu basiques sur la dipropynyletone.

b) Pour renforcer le caractère alcalin de cette fonction amine deux solutions étaient possibles :

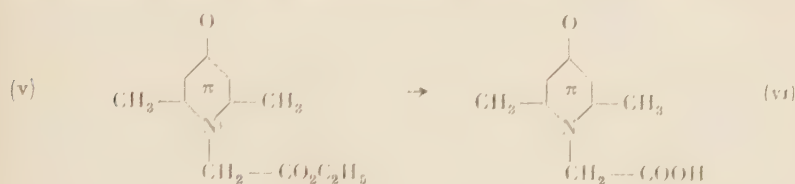
- 1° Salifier la fonction acide.
- 2° L'estérifier.

Conformément à cette hypothèse, le glycocollate de sodium, comme le glycocollate d'éthyle, peut donner des composés d'addition (m) et (iv).

(2) J. CHAUVELIER, *Bull. Soc. Chim.*, 1939, 611.



Le composé d'addition du glycocollate d'éthyle (iv), s'isomérise, dans les conditions habituellement choisies pour isomériser les adducts d'amines, en N-éthylcarboxyméthyl lutidone (v), dont la saponification par la soude fournit la N-carboxyméthyl lutidone (vi) :

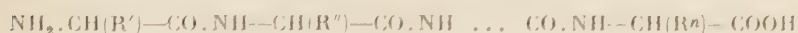


Par contre, il n'avait pas été possible d'obtenir dans ces conditions la transposition du composé d'addition du glycocollate de sodium (iii).

Nos premiers essais ont eu pour objet l'étude de la transposition de ce sel.

Nous sommes parvenus, ainsi que nous l'exposerons plus loin, à réaliser, dans des conditions relativement douces, cette transposition.

D'après ces résultats, on pouvait espérer trouver une nouvelle méthode de détermination des amino-acides N-terminaux des chaînes polypeptidiques. En effet, considérons une telle chaîne :



et admettons qu'il soit possible de réaliser sur les groupements NH_2 libres, soit directement soit par l'intermédiaire d'un artifice, les réactions d'addition et de transposition que nous venons de rappeler. L'hydrolyse du produit final devrait donner des lutidones N-substituées correspondant aux amino-acides dont les groupements NH_2 sont libres dans la chaîne polypeptidique.

Il semblait possible de mettre en évidence et de différencier aisément ces substances par une méthode physico-chimique appropriée, telle que la chromatographie de partage.

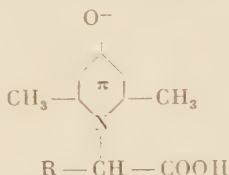
Par suite, on semblait avoir là une méthode élégante de détermination des acides aminés à groupements aminogènes libres, méthode qui aurait pu éventuellement compléter une méthode déjà connue : méthode de Sanger ⁽⁴⁾ ou méthode d'Edman ⁽⁵⁾.

⁽⁴⁾ R. R. PORTER et F. SANGER, *Biochem. J.*, 1948, **42**, 287.

⁽⁵⁾ E. O. P. THOMPSON, *J. Biol. Chem.*, 1954, **208**, 565.

Ce travail avait initialement pour but de mettre au point une telle méthode.

Cependant, en admettant que ce procédé soit réalisable, il nous fallait dans un premier temps réaliser la préparation des lutidones N-substituées, correspondant aux acides aminés naturels, afin que ces substances puissent éventuellement nous servir de référence lors de l'identification des produits d'hydrolyse dont il est question ci-dessus.



Nous avons donc étudié l'action de la dipropynylcétone sur les amino-acides. Nous sommes arrivés à la conclusion suivante :

— Les composés d'addition de la dipropynylcétone et des amino-acides ne possédant pas de chaîne latérale en α de l'azote conduisent facilement à des lutidones N-substituées par chauffage dans l'eau de leur sel de sodium ou par chauffage dans le xylène de leurs esters (glycocolle, β -alanine, acide ε -amino-caproïque).

— Par contre, les adduits d'acides aminés possédant une chaîne latérale en α de l'azote ne s'isomérisent pas dans les conditions décrites.

Or, ce cas est, à l'exception du glycocolle, celui de tous les amino-acides naturels.

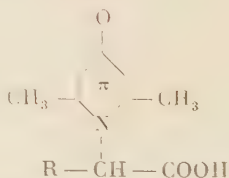
Ce fait est en accord avec la remarque suivante :

Parmi les amines étudiées par Mlle Chauvelier, l'une d'elles, l'isopropylamine $\text{NH}_2 - \text{CH} - \text{CH}_3$ qui possède une chaîne latérale en α de



l'azote, n'a pu donner la N-isopropyl lutidone.

Dès lors, notre travail a eu pour objet de trouver une méthode de préparation des lutidones N-substituées:

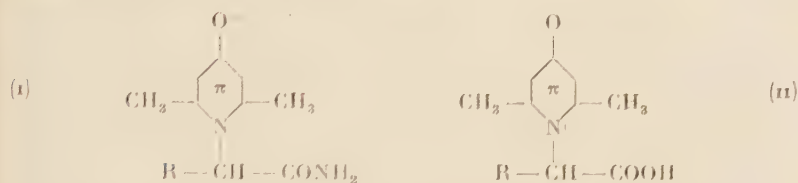


Nous sommes parvenus au résultat après de longues recherches :

1^o Nous avons pu obtenir à l'état cristallin les adduits de la dipropynylcétone et des acides aminés, de leurs sels de calcium ou de leurs amides.

2^o En présence d'un catalyseur basique : l'hydroxyde de triméthyl-

benzylammonium, et aux environs de 150°, les adducts de la dipropynylcétone et des amides des amino-acides naturels s'isomérisent en lutidones (i) :



qui par hydrolyse conduisent aux lutidones cherchées (ii).

Ce procédé nous a également permis d'isomériser en N-isopropyl lutidone l'adduct de l'isopropylamine, qui, jusque-là, n'avait pu être cyclisé.

Enfin, nous l'avons appliqué avec succès à des dipeptides et, après hydrolyse, nous avons détecté la lutidone correspondant à l'acide N-terminal, par photographie en lumière ultraviolette d'un chromatogramme de partage.

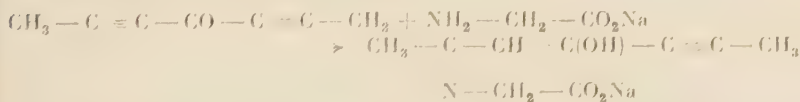
Toutefois, malgré ces résultats, il semble que l'application de cette méthode à la détection d'acides aminés N-terminaux dans les longs peptides doive exiger encore de longues recherches.

PARTIE THÉORIQUE

CHAPITRE PREMIER

Étude des produits d'addition de la dipropynylcétone avec les α -amino-acides et leurs dérivés.

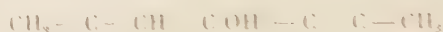
1° Mlle Chauvelier a montré que si l'on traite une solution de glycolate de sodium par la quantité équimoléculaire de dipropynylcétone, le sel de sodium du produit d'addition du glycolle et de la cétone diacétylénique, peu soluble, précipite :



Nous avons tenté de généraliser cette réaction en l'étendant aux autres amino-acides.

Les sels de sodium des adducts, dans la plupart des cas, sont beaucoup plus solubles que celui du glycolle. Il est cependant possible,

par acidification prudente du milieu, de séparer les adduits sous leur forme acide :



Les produits ainsi obtenus sont en général bien cristallisés, mais peu stables : ils se décomposent facilement si l'on essaye de les purifier et se conservent difficilement.

Seule la β -alanine a fourni un produit d'addition cristallisé sous forme de sel de sodium :



2° Nous avons obtenu à l'état cristallin les composés d'addition de la cétone et des sels de calcium d'amino-acides.

3° Pour des raisons que nous exposerons plus loin, nous avons été amenés à étudier la condensation de la dipropynylcétone avec, d'une part, les esters, d'autre part, les amides des α -amino-acides.

Avec les esters la réaction s'est révélée difficile : nous n'avons pu obtenir d'adduct cristallisé.

Par contre, avec les amides des amino-acides que nous avons étudiés, nous avons obtenu aisément des substances bien cristallisées plus stables que les adduits d'amino-acides.

Remarque. — Tous ces dérivés d'addition possèdent en commun la propriété suivante :

Le perchlorure de fer, très dilué, additionné à la solution aqueuse de quelques milligrammes de l'adduct, donne un précipité rouge qui se dissout en milieu chlorhydrique pour donner une coloration rouge.

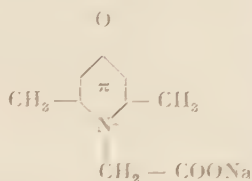
Cette propriété, que possèdent également les énols, postule en faveur de la forme énol du composé d'addition.

CHAPITRE II

Étude de la transposition des adduits d'amino-acides ou de leurs sels.

A. — Étude de la transposition dans le cas de l'adduct du glycocollate de sodium. — Mlle Chauvelot a montré que l'adduct du glycocollate de sodium ne peut être transposé par chauffage, ni même dans un solvant non protique tel que le xylène, dans lequel les groupes d'amines primaires se transposent aisément.

Cependant, nous avons constaté que, par simple chauffage en milieu aqueux, l'adduct du glycoollate de sodium se transpose en sel de sodium de la N-carboxyméthyl lutidone :



Par acidification du milieu, la N-carboxyméthyl lutidone est obtenue avec un rendement de 30 à 40 p. 100.

Identification. — L'acide ainsi obtenu a été identifié avec le produit obtenu par Mlle Chauvelier :

- a) par l'analyse centésimale ;
- b) par le point de fusion (peu net, décomposition),
- c) par chromatographie de partage sur papier,
- d) par l'examen des spectres d'absorption ultraviolette.

B. — Influence du pH. — Au cours de cette transposition, nous avons été amenés à faire l'observation suivante :

La solution aqueuse est initialement à un pH voisin de la neutralité. Au cours du chauffage, le pH devient alcalin.

Cette observation nous a amenés à étudier systématiquement l'influence du pH sur la transposition en milieu aqueux.

Les essais ont été effectués en utilisant une méthode spectrophotométrique.

En effet, la N-carboxyméthyl lutidone présente, en lumière ultra-violette, un maximum d'absorption aux environs de 2 620 Å, qui ne varie pratiquement pas pour des pH compris entre 4,5 et 10,5.

Pour les mêmes pH, la solution de l'adduct est relativement peu absorbante (les pH étant mesurés immédiatement après la mise en solution), en sorte qu'il est aisé de mettre en évidence la formation de N-carboxyméthyl lutidone.

Les essais ont été poursuivis en chauffant une solution tamponnée du composé d'addition pendant 6 heures, en tube scellé, au pH choisi.

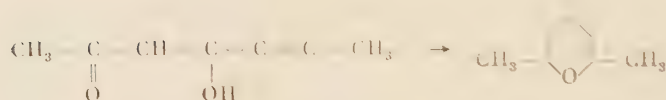
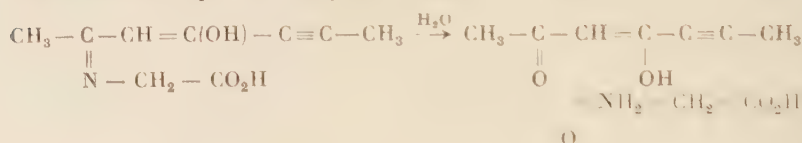
On a chauffé dans les mêmes conditions des solutions de concentration égale de N-carboxyméthyl lutidone.

À la fin du chauffage, les spectres d'absorption des différentes solutions ont été comparés.

Les résultats sont les suivants :

a) pH acide (4,9) (solution de phosphate monopotassique). — Après chauffage, on voit apparaître une bande située à 2 500 Å qui ne peut certainement pas être attribuée à la présence de N-carboxyméthyl lutidone.

Nous avons pensé que ces bandes pouvaient être dues à la présence de diméthyl-2-6 pyrone, pouvant résulter de l'hydrolyse de l'adduct suivie de la transposition du produit formé.



Dans le but de contrôler cette hypothèse, nous avons confronté le spectre de la solution obtenue après chauffage avec celui d'une solution de diméthylpyrone chauffée dans les mêmes conditions.

L'examen des courbes semble confirmer notre hypothèse.

C'est pourquoi dans tous les essais qui ont suivi, en plus des tubes contenant, d'une part, l'adduct, d'autre part, la N-carboxyméthyl lutidone, nous avons chauffé dans les mêmes conditions un tube de 2-6-diméthylpyrone (Planche I).

b) pH = 7,3 (solution de phosphates monopotassique et disodique) (Planche II). — La formation de pyrone est prépondérante.

c) pH = 9,2 (solution de phosphate disodique) (Planche III). — Même conclusion que pour pH = 7,3.

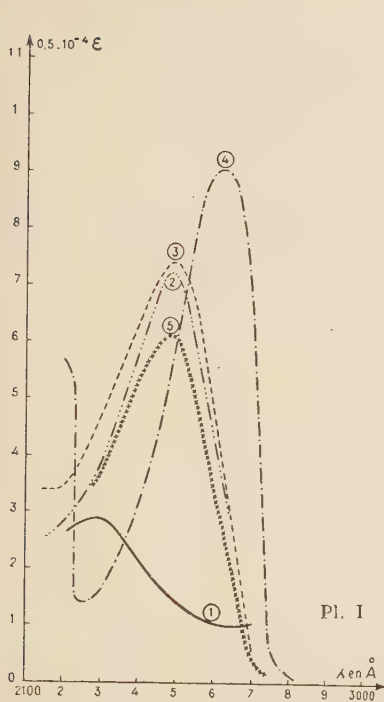
d) pH = 10,5 (solution soude-acide borique).

La formation de N-carboxyméthyl lutidone est prépondérante.

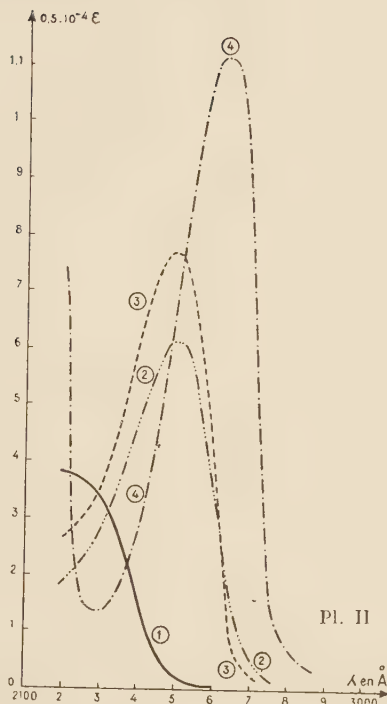
Le spectre de la solution de pyrone après chauffage de celle-ci est modifié mais ne peut être confondu avec celui d'une lutidone N-substituée (Planche IV).

CONCLUSION. — Un pH nettement alcalin paraît donc favorable à la transposition (Planche V)

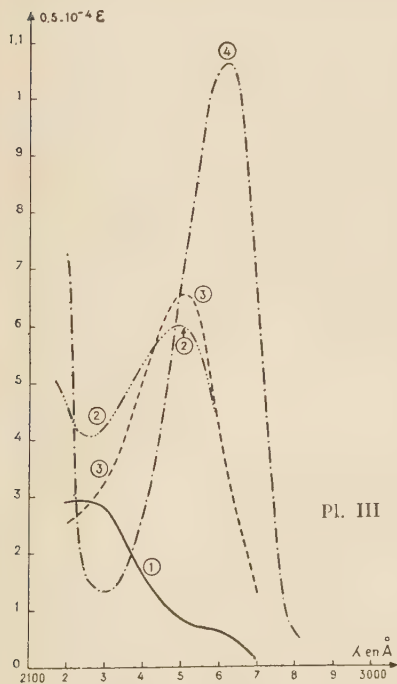
REMARQUES. — 1. A pH = 4,9, la solution de l'adduct, abandonnée 48 heures à la température ordinaire, montre un spectre d'absorption identique à celui de la même solution chauffée dans les conditions précédemment décrites.



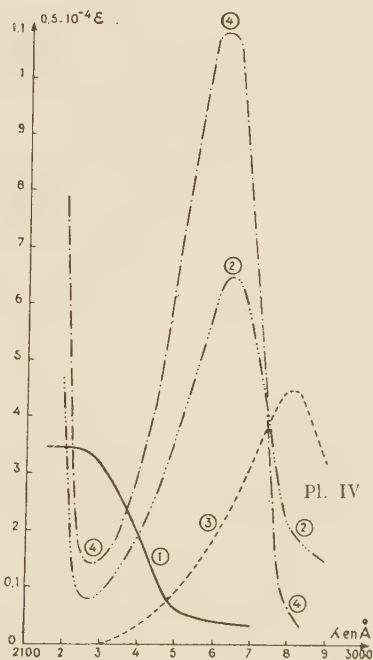
Pl. I



Pl. II



Pl. III



Pl. IV

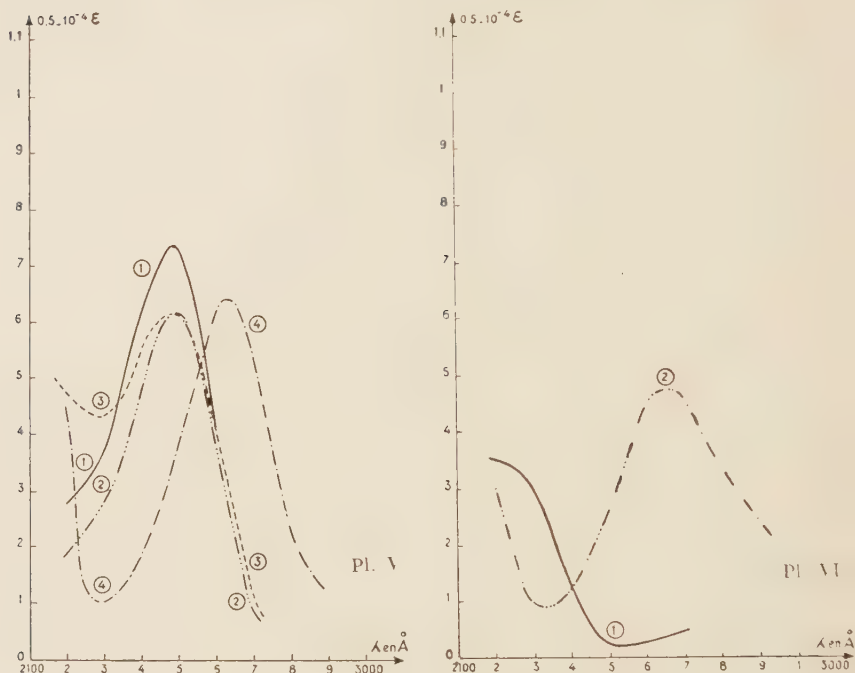


PLANCHE I. — Courbes d'absorption en U.-V.

1. Solution de l'adduct du glycolle avant chauffage : pH = 4,8.
2. Solution de l'adduct du glycolle après chauffage.
3. Solution de pyrone après chauffage.
4. Solution de N-carboxyméthyl lutidone après chauffage.
5. Solution de l'adduct du glycolle avant chauffage mais 48 heures après dissolution.

PLANCHE II. — Courbes d'absorption en U.-V.

1. Solution de l'adduct du glycolle avant chauffage : pH = 7,3.
2. Solution de l'adduct du glycolle après chauffage.
3. Solution de pyrone après chauffage.
4. Solution de N-carboxyméthyl lutidone après chauffage.

PLANCHE III. — Courbes d'absorption en U.-V.

1. Solution de l'adduct du glycolle avant chauffage : pH = 9,2.
2. Solution de l'adduct du glycolle après chauffage.
3. Solution de pyrone après chauffage.
4. Solution de N-carboxyméthyl lutidone après chauffage.

PLANCHE IV. — Courbes d'absorption en U.-V.

1. Solution de l'adduct du glycolle avant chauffage : pH = 10,5.
2. Solution de l'adduct du glycolle après chauffage.
3. Solution de pyrone après chauffage.
4. Solution de N-carboxyméthyl lutidone après chauffage.

Il semble donc que, pour ce pH , l'hydrolyse en γ -pyrone se produise même à froid.

Nous n'avons pas observé de phénomène identique pour les autres pH .

II. Les courbes qui suivent représentent la variation du coefficient d'extinction moléculaire en fonction de la longueur d'onde.

$$\Sigma = \frac{1}{1c} \log \frac{I_0}{I}$$

$$c // 0,5 \cdot 10^{-4} N.$$

C. — Cas des autres acides aminés. — a) Acides α -aminés. — Nos premiers essais ont porté sur le produit d'addition de l' α -dl-alanine et de la dipropynylcétone.

En milieu tamponné à $pH = 10,5$ et dans des conditions que nous avons précisées précédemment au sujet de l'adduct du glycolle, il est possible de mettre spectrographiquement en évidence l'apparition d'un produit, dont le maximum d'absorption en ultraviolet correspond à celui d'une lutidone N-substituée.

Cependant ce maximum est peu accentué (voir Planche VI) et, malgré des essais répétés, il ne nous a pas été possible d'isoler des quantités appréciables de N(carboxy, méthyl)-méthyl lutidone.

Des essais sur l'adduct obtenu à partir de la méthionine et de la dipropynylcétone ont conduit au même échec.

Des essais pour transposer le produit d'addition acide de la méthionine par chauffage en milieu xylénique ont montré qu'une proportion relativement importante (de l'ordre de 30 p. 100) subit dans ces conditions une décarboxylation.

En résumé, tous nos essais pour effectuer une transposition directe des adducts des α -amino-acides se sont soldés par un échec.

Deux hypothèses permettaient d'expliquer cet échec :

1° Les adducts sont trop fragiles et se décomposent dans les conditions de l'expérience.

PLANCHE V. — Courbes d'absorption en U.-V. de solutions de l'adduct du glycolle chauffées dans des solutions-tampons de pH différents.

1. $pH = 4,8$. 2. $pH = 7,3$. 3. $pH = 9,2$. 4. $pH = 10,5$.

PLANCHE VI. — Courbes d'absorption en U.-V

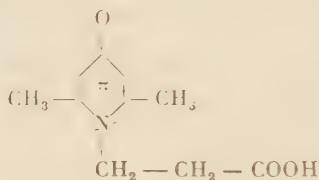
1. Solution de l'adduct de l'alanine avant chauffage : $pH = 10,5$.
2. Solution de l'adduct de l'alanine après chauffage.

2° La présence d'un radical en α de l'amine amène un « encombrement » qui gêne la réaction de transposition.

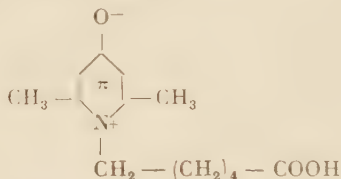
La seconde de ces hypothèses paraît être confirmée par les essais suivants :

b) Cas de β - et ϵ -amino-acides. — Contrairement à ce que nous avons observé pour l' α -alanine, nous avons pu très aisément réaliser la transposition des produits d'addition du sel de sodium de la β -alanine et de la dipropynylcétone.

Nous avons ainsi obtenu la N-carboxyéthyl lutidone :



De même, dans ces conditions, l'adduct de l'acide ϵ -amino-caproïque a fourni la N-carboxypentyl lutidone :



En conclusion, l'ensemble de ces essais permet de montrer que le facteur stérique a une grande importance dans les phénomènes de transposition étudiés.

Cependant, ce facteur ne doit pas conditionner à lui seul la réussite de l'opération.

Il est en effet possible qu'en raison de leur faible stabilité, les composés d'addition des amino-acides subissent une dégradation profonde au cours du chauffage.

Comme nous l'avons indiqué précédemment, nous avons, d'autre part, constaté que les adducts des amides d' α -amino-acides sont remarquablement stables, comparés à ceux de ces mêmes amino-acides sous leur forme libre.

C'est pourquoi nous avons entrepris l'étude de la transposition des adducts d'amides d' α -amino-acides.

Cette étude s'est montrée fructueuse et nous a permis par ce moyen détourné de préparer les lutidones N-substituées, que nous n'avions pu obtenir jusque-là.

CHAPITRE III

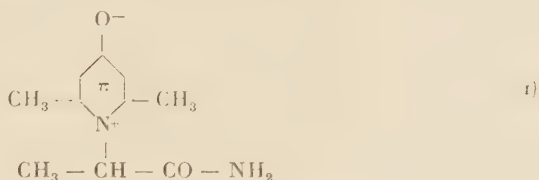
Étude de la transposition des adduits des amides
d'acides α -aminés.

A. — Cas de l'adduct de l'alanylamide. — Nous avons étudié systématiquement l'étude du chauffage de ce produit d'addition dans des solvants à points d'ébullitions croissants.

Ainsi, nous l'avons chauffé durant 4 heures, à reflux, dans les solvants suivants : eau, dioxane (éb. 100°8), anisol (éb. 153°8), diméthylformamide (155°). Dans tous ces cas, après chauffage, nous avons récupéré presque intégralement le produit de départ *qui ne paraît pas au cours du chauffage subir de décomposition*.

Devant cet échec, nous avons d'abord tenté de réaliser la transposition par chauffage brutal à sec et à 230°.

Dans ces conditions, nous avons pu obtenir avec un rendement médiocre (20 p. 100) une substance dont l'analyse et le spectre sont conformes à ceux de la N(carboxamido, méthyl)-méthyl lutidone normalement attendue :



Cette technique brutale présente deux inconvénients :

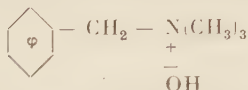
- a) Elle donne des rendements médiocres ;
- b) Elle ne peut être appliquée à des dérivés fragiles ou à des substances polypeptidiques.

Elle montre cependant que la transposition est possible dans le cas des amides et ce fait nous a encouragée à chercher une méthode de transposition plus douce.

Nous avons orienté nos efforts vers la recherche d'un catalyseur permettant de réaliser la réaction à des températures moins élevées, de préférence dans un solvant.

Notre étude précédente de l'influence du pH sur la transposition ayant montré qu'un milieu alcalin favorise l'opération, nous avons recherché un agent catalyseur à caractère alcalin.

Parmi ceux décrits dans la littérature, le triton B ou hydroxyde de triméthylbenzylammonium nous a paru particulièrement intéressant :



En effet, des travaux récents ont montré que le triton B est un agent catalytique qui rend possible l'addition de certaines substances à hydrogène même faiblement mobile sur des doubles liaisons particulièrement réactives. Ainsi, il a permis la cyanoéthylation d'amines grasses, aromatiques, hétérocycliques, et de certaines fonctions imines.

Les réactions ainsi catalysées peuvent être schématisées comme suit :

$$\text{R} - \text{NH} - \text{R} + \text{CH}_2 = \text{CH} - \text{C} \equiv \text{N} \rightarrow \text{N}(\text{R})_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{C} \equiv \text{N}.$$

Or, la cyclisation de nos composés d'addition présente une certaine analogie avec les réactions de ce type. C'est pourquoi nous avons systématiquement étudié l'influence du triton B sur la cyclisation de l'adduct de l'amide de l' α alanine, au sein des solvants dont nous avons parlé plus haut.

Nos résultats peuvent être résumés comme suit :

a) à des températures voisines de 100° (eau, dioxane), le triton B ne paraît pas catalyser la réaction ;

b) pour des températures de l'ordre de 150° (anisole, diméthylformamide), le triton B catalyse la réaction et on peut, moyennant certaines précautions, obtenir un rendement de 55 à 70 p. 100 ;

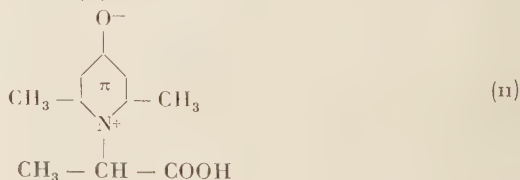
c) le diméthylformamide paraît un bon solvant pour ce genre d'opérations, car il dissout parfaitement aux températures indiquées ci-dessus le produit d'addition ;

d) au sein du diméthylformamide, il est possible d'opérer à plus basse température, cependant avec un moins bon rendement : 20 à 30 p. 100 à 130°.

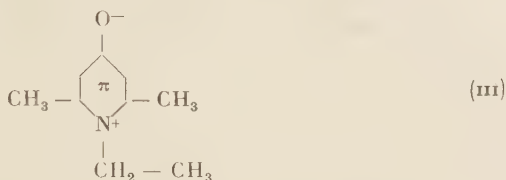
Donc, en opérant dans le diméthylformamide, à 150°, en présence de triton B, nous avons aisément obtenu un produit identique à celui obtenu par voie sèche et dont la structure devait correspondre à la formule (1), ainsi qu'en attestent, d'une part, l'analyse, d'autre part, le spectre qui est celui d'une lutidone N-substituée.

Nous avons néanmoins cherché à préciser la structure de ce corps afin d'écarter l'hypothèse d'un produit provenant de réactions secondaires mal connues.

La structure de (1) a pu être démontrée comme suit : l'hydrolyse acide nous a permis d'isoler un acide (II) :



dont la décarboxylation nous a fourni la N-éthyl lutidone (III) :

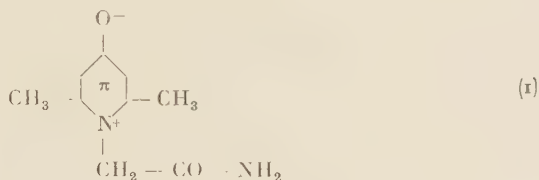


Cette décarboxylation s'est révélée particulièrement délicate.

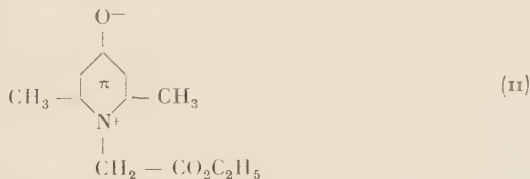
Nous l'avons réalisée par chauffage à sec à 230° sous vide, mais la N-éthyl lutidone fournie n'a pu être isolée à l'état cristallin, étant donné les petites quantités obtenues. Nous l'avons identifiée par chromatographie sur papier par comparaison avec un échantillon de lutidone pure.

B. — Cas de l'adduct du glycyamide. — Le traitement au triton B de l'adduct du glycyamide conduit à la N-carboxamidométhyl lutidone que l'on peut également obtenir par une voie connue. Ce fait apporte un nouvel argument en faveur de la structure proposée pour le corps obtenu par traitement identique de l'alanylamide.

1° L'amide du glycolle fournit, ainsi que nous l'avons indiqué, un composé d'addition bien cristallisé qui, par chauffage dans le diméthylformamide en présence de triton B, conduit à la N-carboxamidométhyl lutidone dont la structure (I) :



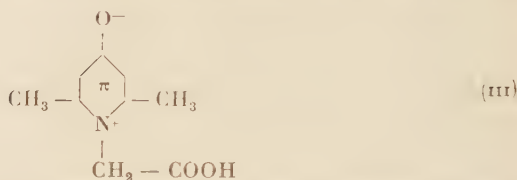
a été prouvée par identification de ce corps avec celui obtenu par action de l'ammoniaque sur l'ester éthylique de la N-carboxyméthyl lutidone (II) :



Ce corps a été préparé par isomérisation de l'adduct de la dipropynylcétone et du glycocollate d'éthyle dans le xylène et sans catalyseur.

2° L'hydrolyse acide du produit (I) fournit une molécule d'ammo-

niacque par molécule de substance mise en œuvre et on isole un acide (iii) :



identique à celui obtenu par transposition du produit d'addition de la dipropynylcétone sur le glycollate de soude et acidification.

Ces résultats prouvent :

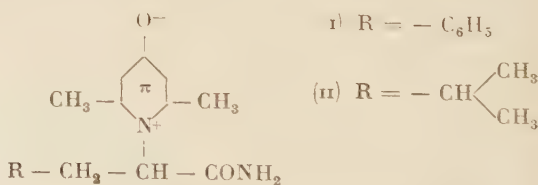
1° que l'addition de la dipropynylcétone sur le glycolamide se fait bien au niveau de la fonction amine primaire ;

2° que la transposition de ce produit d'addition s'effectue normalement.

C. — **Généralisation aux amides des autres amino-acides.** — Nous avons cherché à étendre cette réaction à des amides d'acides-amino, dont l'encombrement au voisinage de la fonction amine laissait craindre quelques difficultés lors de la transposition.

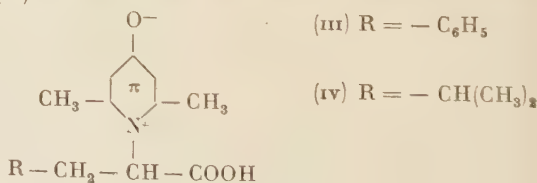
C'est pourquoi nous avons étudié le cas de l'amide de la phénylalanine et celui de l'amide de la leucine.

Dans les deux cas, les adducts s'obtiennent aisément. La méthode de transposition que nous avons mise au point, à savoir le chauffage de l'adduct dans le diméthylformamide en présence d'hydroxyde de triméthylbenzylammonium, nous a permis d'obtenir aisément la N(carboxamido, benzyl)-méthyl lutidone (i) à partir de l'adduct de l'amide de la phénylalanine et la N(carboxamido, isobutyl)-méthyl lutidone (ii) à partir de l'adduct de l'amide de la leucine :



Les rendements de ces transpositions sont un peu plus faibles.

Ces amides, par hydrolyse acide, nous ont permis d'obtenir les acides correspondants (iii) et (iv) :



En conclusion, l'utilisation des amides, d'une part, et d'agents de transposition convenables, d'autre part, nous a permis de réaliser la synthèse de lutidones N-substituées qui n'étaient pas accessibles par d'autres voies.

Cette méthode est très probablement applicable à la totalité des amides des acides α -aminés simples.

Cependant, ce travail risquant d'être long et vraisemblablement sans intérêt, nous avons préféré entreprendre l'étude de l'application de notre méthode à des dipeptides simples.

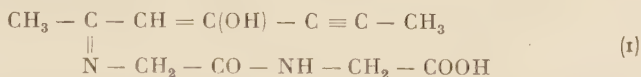
CHAPITRE IV

Détection de l'acide aminé N-terminal dans un dipeptide.

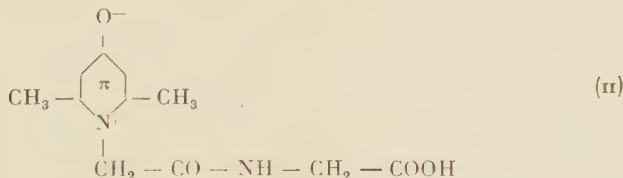
Nos essais ont porté sur trois polypeptides dont l'acide aminé N-terminal était susceptible de conduire, par action de la dipropynylcétone, isomérisation de l'adduct et hydrolyse, à une lutidone N-substituée déjà préparée.

Nous avons ainsi étudié la glycylglycine, la glycylléucine et l'alanyl-glycine.

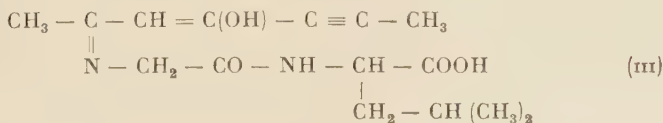
A) La glycylglycine sous forme acide a fourni aisément un adduct (I) :



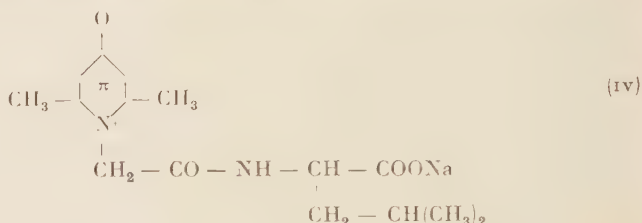
Par simple chauffage en milieu aqueux de son sel de sodium, la transposition attendue a eu lieu et nous avons obtenu un produit de structure (II), dont l'hydrolyse chlorhydrique a fourni du glycolle et de la N-carboxyméthyl lutidone qui ont pu être identifiés par chromatographie de partage sur papier :



De même, la glycylléucine a donné l'adduct (III) :



et, par chauffage dans l'eau de son sel de sodium, le produit de transposition (iv) :

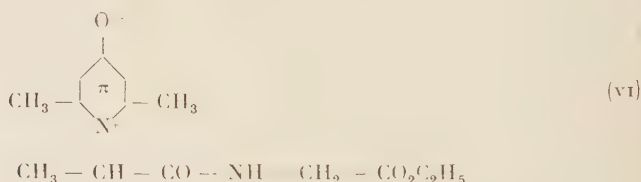


dont l'hydrolyse conduit à la N-carboxyméthyl lutidone et à la leucine.

Dans le cas de l'alanylglycine, nous avons, pour des raisons exposées dans la partie expérimentale, opéré sur l'ester éthylique qui, en milieu hydroalcoolique, nous a donné l'adduct (v) :



Cette substance traitée par le triton B dans le diméthylformamide, nous a donné le produit de transposition (vi) correspondant :



Cependant, au cours de cette opération, nous ne sommes pas parvenus à obtenir un rendement supérieur à 30 p. 100.

L'hydrolyse de cette dernière substance nous permet d'isoler la N(carboxy, méthyl)-méthyl lutidone attendue, qui a pu être identifiée par analyse chromatographique sur papier.

En conclusion, nos essais sur les dipeptides montrent qu'à cette échelle la méthode est possible.

Cependant, avant qu'elle puisse faire l'objet d'une application à des molécules protéiques plus complexes, et surtout plus fragiles, de nombreux problèmes restent encore à résoudre.

En effet, les techniques que nous avons mises au point, bien qu'apportant une amélioration à celles utilisées avant nous, paraissent encore difficilement transposables aux molécules protéiques pour les raisons suivantes :

a) nous avons vu qu'il serait souhaitable, pour assurer une addition et une transposition sur toutes les fonctions amines libres, de faire disparaître les pôles acides de la molécule. D'où nécessité d'une estérification préalable ;

b) les conditions nécessaires à la transposition des adducts (température de l'ordre de 150°) sont peu favorables à la manipulation de molécules aussi fragiles et aussi facilement dénaturables.

La recherche d'un catalyseur plus actif permettrait peut-être d'abaisser la température nécessaire à la transposition.

De toute façon, malgré l'intérêt de cette réaction, il semble que de longues recherches soient nécessaires avant son application à l'étude des protéines.

CHAPITRE V

Étude de la transposition de l'adduct de l'isopropylamine.

L'emploi du triton B paraissait une voie intéressante pour favoriser cette réaction.

En fait, outre les problèmes que nous venons d'exposer, ce catalyseur nous a permis d'apporter une solution à la question posée par l'étude de la transposition des adducts d'amines primaires et de la dipropynylcétone.

Mlle Chauvelier a montré, en effet, que l'isopropylamine, comme en général les autres amines primaires grasses, donne avec la dipropynylcétone un adduct parfaitement cristallisé. Contrairement à la plupart des autres bases primaires, elle ne paraît pas donner par chauffage de l'adduct dans le xylène un produit de transposition bien défini, ou, si ce produit se forme, il est obtenu en trop petite quantité pour pouvoir être isolé.

On pensait que l'encombrement stérique pouvait expliquer les difficultés rencontrées dans ce cas particulier.

Cependant, ainsi que nous l'avons montré dans l'étude précédente, si l'encombrement stérique est un facteur gênant, il ne peut expliquer tous les échecs, puisque l'emploi de catalyseur permet de lever la difficulté. C'est pourquoi nous avons étudié l'action du triton B sur l'adduct de l'isopropylamine et nous avons constaté que l'utilisation de cet ammonium quaternaire permet de résoudre le problème et d'obtenir avec un bon rendement (66 p. 100 après une cristallisation) la N-isopropyl lutidone.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE PREMIER

Préparation des composés d'addition de la dipropynylcétone et des acides aminés ou de leurs dérivés.

A. — Préparation des composés d'addition de la dipropynylcétone et des acides aminés libres. — Nous avons isolé à l'état cristallin les adducts de plusieurs acides aminés.

Ces adducts sont instables ; ils s'hydrolysent facilement en acide aminé et en pyrone. En particulier, il est difficile de les recristalliser sans les décomposer.

De plus, ayant constaté quelques mois après leur préparation une modification de leur couleur habituellement jaune paille, nous avons soumis quelques-uns d'entre eux à l'analyse. Les proportions d'azote avaient augmenté de 10 p. 100 environ.

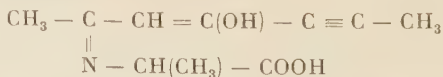
Le point de fusion indiqué n'est donc valable que pour un produit fraîchement préparé.

Ces adducts sont en général peu solubles dans l'eau, mais solubles dans l'alcool.

Enfin, ils possèdent en commun avec les autres formes (sel, ester ou amide) la propriété suivante, déjà signalée précédemment :

Le perchlorure de fer en solution très diluée, additionné à la solution aqueuse de quelques milligrammes de l'adduct, donne un précipité brun violet qui se dissout en milieu légèrement acide pour donner une coloration rouge.

Nous allons exposer la préparation de l'adduct d'un acide aminé et donner pour les autres les résultats d'analyse et les points de fusion.

Préparation de l'adduct de l' α -alanine :

A 1 g d' α -alanine dissous dans 2 cm³ d'une solution de soude à 22,4 p. 100, on ajoute une solution de 1,19 g de dipropynylcétone dans le minimum d'éthanol.

Après quelques heures, le pH devient neutre. On chasse alors les solvants sous vide. On redissout le résidu dans 10 cm³ d'eau. On ajoute goutte à goutte jusqu'à pH = 3 environ (papier pH) une solution d'acide chlorhydrique dilué au 1/3. Des cristaux précipitent. On les lave à l'eau

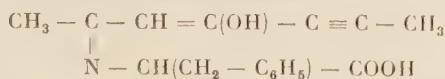
jusqu'à élimination complète des ions chlores et on les sèche dans un exsiccateur à vide. Rdt : 1,4 g (65 p. 100). P. F. : 159°-160°.

Anal. (C₁₀H₁₃O₃N : 195,20) : Calc. p. 100 : C, 61,53 ; H, 6,66 ; N, 7,11. — Tr. : C, 61,47 ; H, 6,61 ; N, 7,11.

Après recristallisation du produit dans l'alcool, les résultats de l'analyse sont modifiés et montrent l'instabilité de l'adduct :

Trouvé : C, 59,23 ; H, 6,87 ; N, 8,23.

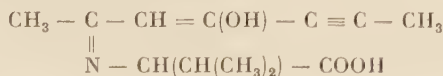
Préparation de l'adduct de la phénylalanine.



Phénylalanine : 0,500 g. Soude : 0,121 g dans 2 cm³ de solution aqueuse. Dipropynylcétone : 0,326 g. Rdt : 0,82 g (67 p. 100). P. F. : 148°-151°.

Anal. (C₁₆H₁₇O₃N : 271,3) : Calc. p. 100 : C, 70,88 ; H, 6,26 ; N, 5,16. — Tr. : C, 70,57 ; H, 6,50 ; N, 5,28.

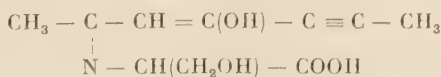
Préparation de l'adduct de la valine.



Valine : 0,500 g. Soude : 0,171 g. Dipropynylcétone : 0,452 g. Rdt : 0,67 g (70 p. 100). P. F. : 159°-161°.

Anal. (C₁₂H₁₇O₃N : 223,26) : Calc. p. 100 : C, 64,57 ; H, 7,72 ; N, 6,28. — Tr. : C, 64,64 ; H, 7,57 ; N, 6,20.

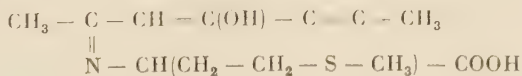
Préparation de l'adduct d'un acide aminé possédant une fonction alcool primaire : la sérine.



Sérine : 0,500 g. Soude : 0,190 g. Dipropynylcétone : 0,504 g. Rdt : 0,300 g (33 p. 100). P. F. : 167°-169°.

Anal. (C₁₀H₁₃O₄N : 211,21) : Calc. p. 100 : C, 56,83 ; H, 6,20 ; N, 6,65. — Tr. : C, 56,99 ; H, 6,29 ; N, 6,69.

Préparation de l'adduct d'un acide aminé contenant du soufre : la méthionine.



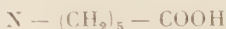
Méthionine : 0,500 g. Soude : 0,131 g. Dipropynylcétone : 0,355 g.
Rdt : 0,500 g. P. F. : entre 110° et 115° le produit se décompose.

Anal. (C₁₂H₁₇O₃NS : 255,26) : Calc. p. 100 : C, 56,43 ; H, 6,70 ; N, 5,48 ; S, 12,56. — Tr. : C, 56,66 ; H, 6,87 ; N, 5,72 ; S, 12,67.

Préparation de l'adduct d'un acide aminé dans lequel les fonctions amine et carboxyl ne sont plus en position α : acide ϵ -amino-caproïque :

1° Préparation de l'acide ϵ -amino-caproïque ⁽⁶⁾ ⁽⁷⁾ ⁽⁸⁾.

2° Préparation de l'adduct.



Acide ϵ -amino-caproïque : 0,500 g. Soude : 0,152 g. Dipropynylcétone : 0,404 g. Rdt : 0,55 g (51 p. 100). P. F. : 86°.

Anal. (C₁₃H₁₉O₃N : 237,29) : Calc. p. 100 : C, 65,88 ; H, 8,02 ; N, 5,90. — Tr. : C, 65,52 ; H, 7,54 ; N, 6,00.

Préparation de l'adduct de la β -alanine.



Alanine : 0,500 g. Soude : 0,224 g (dans 0,5 cm³ de solution). Dipropynylcétone : 0,585 g dans le minimum d'éthanol.

Le sel de sodium de l'adduct précipite à l'état cristallin avec un rendement de 70 p. 100.

De la même façon que précédemment, il conduit à l'adduct acide. Rdt : 0,540 g (50 p. 100). P. F. 148°-149°.

Anal. (C₁₀H₁₃O₃N) : Calc. p. 100 : C, 61,52 ; H, 6,71 ; N, 7,17. — Tr. : C, 61,80 ; H, 6,70 ; N, 7,37.

REMARQUE. — La solution de soude utilisée dans ce dernier cas est plus concentrée que dans ceux des acides aminés précédemment étudiés ; il en est résulté une amélioration du rendement qui diminue rapidement dès que la quantité d'eau augmente.

Même avec des concentrations de soude supérieures à celles énoncées, nous n'avons pu obtenir le sel de sodium cristallisé des adducts₃ des acides aminés cités précédemment.

^{*} *Organic Syntheses*, t. 2 (collective volume), p. 77.

^{**} *Organic Syntheses*, t. 2 (collective volume), p. 77 et 371.

^{***} *Organic Syntheses*, t. 2 (collective volume), p. 58.

B. — Préparation des composés d'addition de la dipropynylcétone et des sels de calcium des amino-acides. — Les sels de calcium ont été obtenus à l'état cristallin. Afin de nous assurer de leur constitution, nous avons soumis à l'analyse les adduits acides qui en sont issus par addition à leur solution aqueuse d'acide chlorhydrique dilué au 1/3.

Préparation du sel de calcium. — Le sel de sodium de 1 g d'acide aminé ayant réagi sur la quantité équivalente de cétone dans les mêmes conditions que précédemment et les solvants ayant été évaporés, on dissout le résidu dans 5 cm³ d'eau, on ajoute goutte à goutte une solution concentrée de Cl₂Ca, jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de précipitation.

Le produit cristallin est lavé et séché dans un exsiccateur. Les rendements sont de l'ordre de 80 p. 100.

Ces sels donnent avec le perchlorure de fer la réaction précédemment décrite.

C. — Préparation des adduits de la dipropynylcétone et des amides des amino-acides. — Les méthodes de préparation des adduits de la dipropynylcétone et des amides des amino-acides sont exposées au cours d'un chapitre suivant qui traite de l'isomérisation de ces composés.

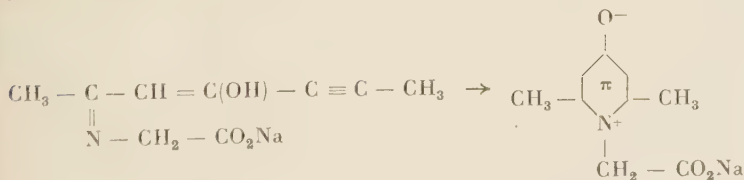
CHAPITRE II

Isomérisation des adduits des acides aminés ne possédant pas de substituants en α de l'azote.

Nous avons étudié les cas du glycocolle, de la β -alanine et de l'acide ε -amino-caproïque.

Leurs sels de sodium s'isomérisent par simple chauffage en milieu aqueux.

A. — Isomérisation de l'adduct de la dipropynylcétone et du glycollate de sodium :



1° Préparation de l'adduct. — Glycocolle : 0,500 g, soude : 0,266 g (dans 0,7 cm³ de solution aqueuse), dipropynylcétone : 0,707 g en solution dans le minimum d'éthanol. Le sel de sodium de l'adduct précipite à l'état cristallin (voir référence (3)).

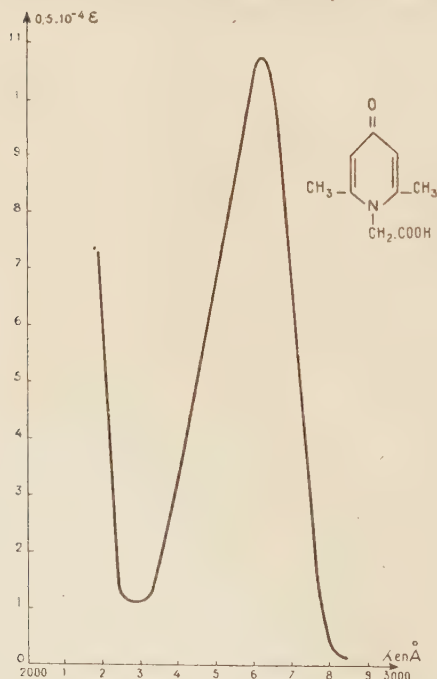
2° Isomérisation. — 1 g de l'adduct est dissous dans 2 cm³ d'eau et chauffé 4 heures à reflux. On ajoute goutte à goutte jusqu'à pH = 4 (papier pH) une solution d'acide chlorhydrique du commerce dilué au tiers.

Les cristaux qui précipitent sont essorés et séchés sous vide phosphorique.

On les recristallise dans l'eau bouillante, dans laquelle ils sont beaucoup plus solubles que dans l'eau froide.

Rdt : 0,30 à 0,35 g (30 à 35 p. 100). P. F. : 297°.

IDENTIFICATION. — Le corps obtenu a été comparé avec celui que Mlle Chauvelier a préparé, par chauffage de l'adduct de la dipropynylcétone et du glycollate d'éthyle dans le xylène, suivi d'une hydrolyse de la fonction ester.



1° Les points de fusion des deux corps et de leur mélange sont les mêmes. Voir référence bibliographique (3).

2° Les courbes d'absorption en lumière ultraviolette de solutions de même concentration coïncident (Planche VII).

Au cours de ce travail, toutes les solutions étudiées du point de vue spectral ont une concentration de l'ordre de $0,5 \cdot 10^{-4}$ M. Afin de pouvoir les comparer entre elles, on a tracé la variation du coefficient d'extinction moléculaire $\frac{1}{l} \log \frac{I_0}{I}$ en fonction de la longueur d'onde.

PLANCHE VII.

l = épaisseur de la cuve.

c = nombre de molécules par litre.

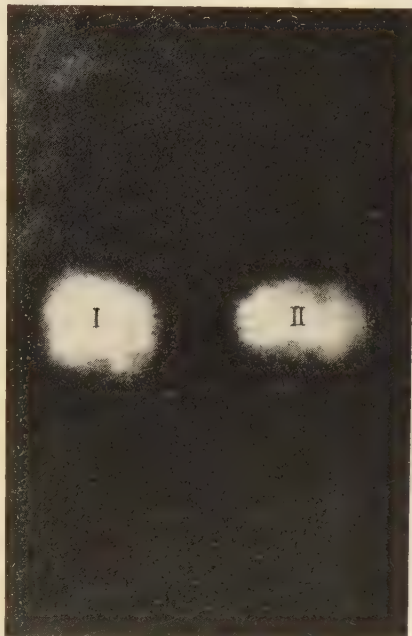
3° Analyse chromatographique. — Nous avons réalisé un chromatogramme sur papier Durieux en utilisant pour chacun des produits à étudier 10 mm³ de solution aqueuse contenant environ 20 γ du corps.

=

PLANCHE VIII. — Chromatogramme de la N-carboxyméthyl lutidone :

1. Préparée par chauffage dans l'eau de l'adduct de la dipropynylcétone et du sel de sodium de glycocolle, suivi d'une hydrolyse.
2. Préparée par chauffage dans le xylène de l'adduct de la dipropynylcétone et de l'ester éthylique du glycocolle, suivi d'une hydrolyse.

=



Le chromatogramme est développé par la méthode ascendante au butanol acétique saturé d'eau.

La position des corps après développement est révélée par photographie du chromatogramme en lumière ultraviolette⁽⁹⁾.

En effet les lutidones N-substituées présentent un pic d'absorption aux environs de 2 600 Å.

(9) R. ALLOUF et R. MUNIER, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1952, **34**, 196.

Un papier photographique, placé derrière le chromatogramme éclairé par une lumière de longueur d'onde voisine de 2 600 Å, ne sera pas impressionné au niveau de la tache de lutidone. La photographie présentera donc une tache blanche sur fond noir.

Le rayonnement est fourni par une lampe à vapeur de mercure Gallois associée à un filtre constitué par la juxtaposition de deux cuves en quartz contenant, l'une du chlore, l'autre une solution de sels de cobalt et de nickel ⁽¹⁰⁾ ⁽¹¹⁾.

Sur le chromatogramme précédemment décrit on constate la présence de deux taches dont les centres se trouvent sur une ligne parallèle à celle de départ (Planche VIII).

On conclut à l'identité des deux corps.

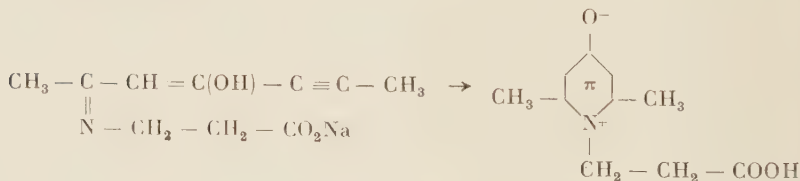
Le procédé de transposition que nous venons de décrire présente sur celui convenant aux adduits issus d'amines simples les avantages suivants :

- a) la température de transposition est abaissée de 50°;
- b) cette transposition s'effectue en milieu aqueux, milieu le plus propice aux produits d'origine biologique.

REMARQUE. — Les spectres décrits dans la partie expérimentale sont ceux de solutions aqueuses de lutidones N-substituées (exception : le spectre 18 a été étudié en milieu alcoolique).

B. — Isomérisation de l'adduct de la dipropynylcétone et du sel de sodium de l'alanine β . — 1° Préparation de l'adduct. — Nous avons précédemment décrit sa préparation.

2° Isomérisation.



On fait bouillir 4 heures, à reflux, une solution aqueuse du sel de sodium de l'adduct (1,3 g dans 6 cm³). Après refroidissement, on acidifie jusqu'à pH = 4 (papier pH) avec de l'acide chlorhydrique dilué au tiers. Des cristaux précipitent. On concentre les eaux mères à 2 cm³

⁽¹⁰⁾ J. D. SMITH et R. MARKHAM, *Biochem. J.*, 1950, **46**, 509.

⁽¹¹⁾ R. MARKHAM et J. D. SMITH, *Nature*, 1949, **163**, 250.

afin d'obtenir une nouvelle cristallisation. Le produit est purifié dans l'eau. Spectre d'absorption en U.-V. (Planche IX).

Anal. ($C_{10}H_{12}O_3N$: 195,20) : Calc. p. 100 : C, 61,52 ; H, 6,71 ; N, 7,17. — Tr. : C, 61,54 ; H, 6,61 ; N, 7,30.

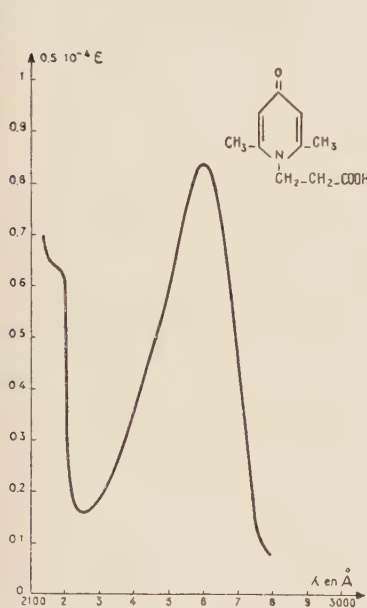


PLANCHE IX.

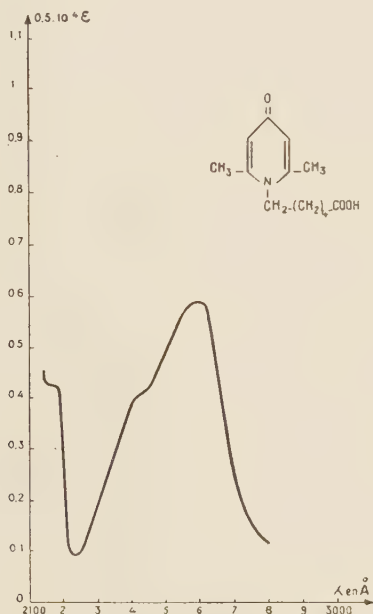
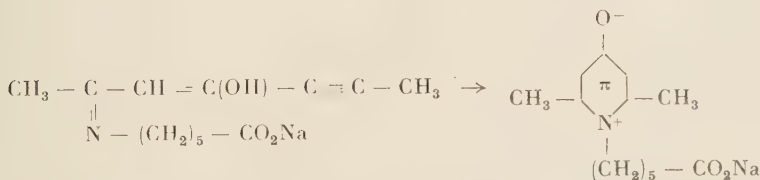


PLANCHE X.

C. — Isomérisation de l'adduct de la dipropynylcétone et du sel de sodium de l'acide ε -amino-caproïque :



1° Préparation de l'adduct (voir précédemment). — Nous avons préparé le sel de sodium sans l'isoler puis chassé l'alcool sous vide.

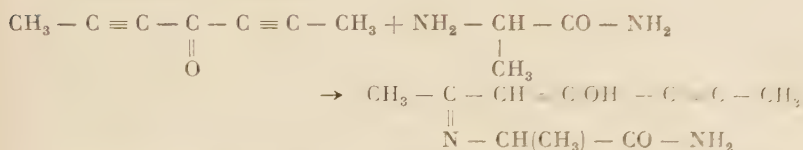
2° Isomérisation. — Le processus est semblable en tous points à celui des deux isomérisations précédentes.

jours dans un vide potassique afin d'éliminer l'acide non combiné. Il est ensuite dissous dans 150 cm³ de méthanol et traité par 47,7 g de triéthylamine. On précipite le chlorhydrate de triéthylamine par deux litres d'éther. Après avoir abandonné le ballon dans la glace pendant une heure, on filtre et les solvants sont éliminés sous vide à 40°. L'ester sirupeux est dissous dans 400 cm³ de méthanol saturé à 0° d'ammoniac dans lequel on l'abandonne trois jours. Après avoir chassé le solvant sous pression réduite on obtient 25 g d'un composé sirupeux dont la formule prévue NH₂—CH—CONH₂ est contrôlée par l'expérience



suivante :

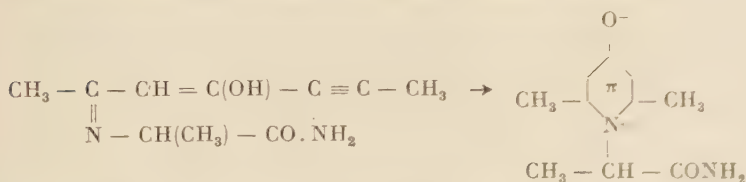
c) Préparation de l'adduct :



25 g d'amide sont dissous dans une solution de 29,3 g de dipropynylcétone dans le minimum d'éthanol. Au bout de quelques minutes un produit précipite à l'état cristallin. Rdt : 42 g soit 48 p. 100 par rapport à l'acide aminé ; on le cristallise dans le méthanol. P. F. : 202° (déc.).

Anal. (C₁₀H₁₄O₂N₂ : 194,42) : Calc. p. 100 : C, 61,83 ; H, 7,26 ; N, 14,42. — Tr. : C, 61,98 ; H, 7,62 ; N, 14,48.

d) Isomérisation en N(carboxamido, méthyl)-méthyl lutidone :



2 g du composé d'addition sont dissous dans 5 cm³ de diméthylformamide additionné de 10 gouttes de l'hydrate de triméthylbenzylammonium et chauffés trois heures à 150°.

Au bout de quelques minutes un précipité commence à se former.

A la fin de l'expérience les cristaux sont essorés et lavés avec un peu d'eau puis d'acétone.

Rdt : 1,1 g à 1,4 soit 55 à 70 p. 100. On les recristallise dans un mélange hydroalcoolique (2 cm³ de méthanol, 1 cm³ d'eau).

P. F. : Il est supérieur à 320°, peu net et la fusion se fait avec décomposition.

Anal. ($C_{10}H_{14}O_2N_2$: 194,42) : Calc. p. 100 : C, 61,83 ; H, 7,26 ; N, 14,42.
— Tr. : C, 61,86 ; H, 7,29 ; N, 14,14.

e) **Spectre d'absorption** (Planche XI). — Il est caractéristique d'une lutidone.

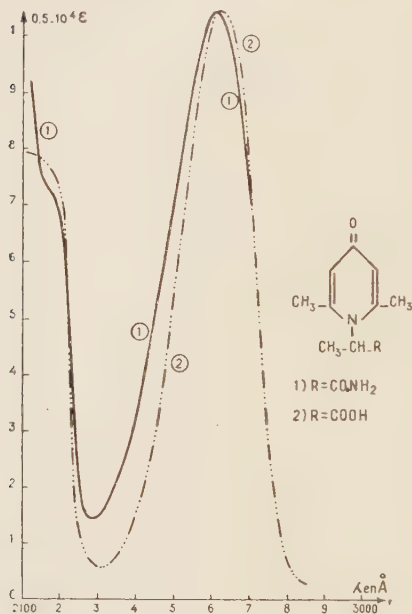


PLANCHE XI.

REMARQUE. — Avant d'obtenir ce rendement, nous avons essayé plusieurs procédés qui ont, soit échoué, soit conduit à des rendements inférieurs.

1° Le chauffage dans l'eau de l'adduct de la dipropynylcétone et de l'amide de l' α -alanine n'a pas permis d'isoler de lutidone N-substituée.

2° Le chauffage dans l'eau en présence de catalyseur nous a également conduit à un échec.

3° De même, le traitement de l'adduct en présence de catalyseur dans un solvant non polaire possédant un point d'ébullition de 100° (le dioxane) s'est révélé inefficace et nous avons retrouvé quantitativement le composé d'addition.

4° Enfin le chauffage dans le diméthylformamide à 150° en l'absence de triton B ne permet pas d'aboutir au résultat cherché.

5° A 100°, dans le diméthylformamide additionné de triton B, on n'isole pas de quantité appréciable de N(carboxamido, méthyl)-méthyl lutidone.

6° A 127°, le rendement est de 30 p. 100.

7° 2 g du composé d'addition sont dissous dans 25 cm³ d'anisol additionné de 10 gouttes de triton B et chauffés 3 heures à reflux au bain d'huile. Un précipité apparaît au bout de quelques minutes.

Rdt : 0,8 g (40 p. 100). Le point de fusion est supérieur à 320°. L'analyse chimique montre que l'on obtient la N(carboxamido, méthyl)-méthyl lutidone.

En l'absence de catalyseur on retrouve quantitativement le composé d'addition.

8° 0,5 g du composé d'addition sont introduits dans un tube à essai et chauffés à sec, à 230°, au bain de métal. Au bout de quelques instants

le corps noircit et bouillonne. Après refroidissement, il reste dans le tube une masse noire et compacte. Elle est broyée dans un mélange de xylène et d'éthanol. On essore le résidu solide. On le purifie (eau-méthanol). Rdt : 150 mg (30 p. 100). L'analyse, le point de fusion supérieur à 320°, la courbe d'absorption en lumière ultraviolette montrent que l'on a obtenu le même corps que précédemment.

Anal. : Calc. p. 100 : N, 14,42. — Tr. : N, 14,05.

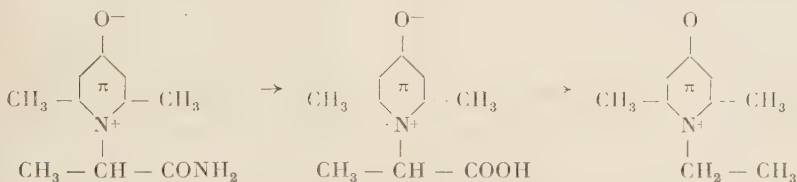
En conclusion, l'emploi d'un catalyseur permet d'abaisser la température d'isomérisation et d'améliorer considérablement le rendement.

Nous avons cherché des preuves en faveur de la formule proposée pour la N(carboxamido, méthyl)-méthyl lutidone :

1° Dégradation de la cellé-ci en un corps connu.

2° Utilisation du procédé pour obtenir une lutidone N-substituée connue et prouver ainsi sa validité.

Dégradation de la N(carboxamido, méthyl)-méthyl lutidone. — La dégradation consiste en une hydrolyse suivie d'une décarboxylation :



L'hydrolyse conduit à la N(carboxy, méthyl)-méthyl lutidone et la décarboxylation de cette dernière à la N-éthyl lutidone.

a) *Hydrolyse.* — Une solution de 1,508 g de la N(carboxamido, méthyl)-méthyl lutidone dans 10 cm³ d'acide chlorhydrique concentré est chauffée à reflux 7 heures. Après avoir éliminé l'eau et l'acide par évaporation sous vide, on dose, dans un appareil à entraînement d'ammoniac, l'azote libéré par l'hydrolyse sous forme de chlorure d'ammonium. Dans ce but on dissout le produit blanc cristallin dans 500 cm³ d'eau ; 1 cm³ d'une telle solution doit contenir 2,10 mg d'azote. On trouve 2,02 mg. L'hydrolyse est donc complète.

Le produit obtenu est un chlorhydrate. Très soluble dans l'eau il ne peut être purifié dans ce solvant : il est donc difficile de le séparer du chlorure d'ammonium par recristallisation.

Nous avons alors préparé la N(carboxy, méthyl)-méthyl lutidone libre de la façon suivante :

45 cm³ de la solution précédente sont traités par un excès d'oxyde de plomb rouge, fraîchement préparé, et portés à ébullition pendant une demi-heure. On filtre. Dans le filtrat on fait passer un courant d'hydrogène sulfuré et on élimine par filtration le sulfure de plomb. La solu-

tion est concentrée à sec sous vide. On obtient ainsi un résidu cristallin. Rdt : 1,2 g (80 p. 100).

Le produit est recristallisé dans l'eau. P. F. : 284°-300° (déc).

Anal. (C₁₀H₁₃O₃N : 195,21) : Calc. p. 100 : C, 61,52 ; H, 6,68 ; N, 7,17. — Tr. : C, 61,88 ; H, 6,98 ; N, 7,14.

b) *Décarboxylation en N-éthyl lutidone.* — Nous avons tout d'abord préparé la N-éthyl lutidone par isomérisation de l'adduct de la dipropynylcétone et de l'éthylamine dans le xylène.

Nous avons, d'autre part, constaté que la N-éthyl lutidone se sublime par chauffage aux environs de 230° sous un vide de 15 mm. Nous avons utilisé cette propriété pour isoler la N-éthyl lutidone provenant de la décarboxylation étudiée.

Mlle Chauvelier avait déjà décarboxylé la N-carboxyméthyl lutidone en N-méthyl lutidone par chauffage vers 280° à la pression ordinaire : référence (3).

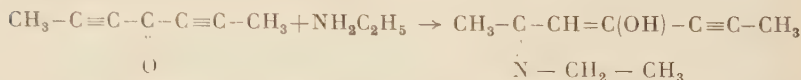
300 mg de la N(carboxy, méthyl)-méthyl lutidone ont donc été chauffés vers 230° sous 15 mm de pression. On obtient sur les parois du tube un produit cristallin que nous avons identifié par analyse chromatographique avec la N-éthyl lutidone.

Les cristaux obtenus ont été dissous dans 5 cm³ d'eau et une goutte de cette solution a été déposée sur papier Durieux à côté d'une goutte de solution de N-éthyl lutidone contenant environ 20 γ de cette dernière (selon un procédé précédemment décrit).

Après développement du chromatogramme au butanol acétique saturé d'eau, les centres des deux taches révélées par photographie en ultraviolet se trouvent sur une ligne parallèle à celle de départ.

Cette expérience permet de conclure en faveur de l'identité des deux corps.

Préparation de la N-éthyl-lutidone. — 1° Préparation de l'adduct de la dipropynylcétone et de l'éthylamine :

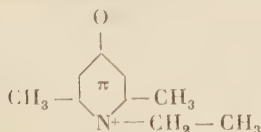


A 4,5 cm³ d'une solution à 33 p. 100 d'éthylamine dans l'éthanol (soit un excès de 20 p. 100) on ajoute lentement et en refroidissant 2,87 g de dipropynylcétone dissoute dans le minimum d'éthanol. On concentre à sec sous vide. Il reste dans le ballon une substance sirupeuse qui, par refroidissement, cristallise en une masse compacte. On la broie avec de l'éther de pétrole et on l'essore. Rdt : 3,2 g (80 p. 100).

Le produit obtenu est recristallisé dans un mélange éther-éther de pétrole 1/2. P. F. : 59°.

Anal. (C₉H₁₃ON : 151,20) : Calc. p. 100 : C, 71,48 ; H, 8,66 ; N, 9,26. — Tr. : C, 71,36 ; H, 8,76 ; N, 9,34.

2° Isomérisation en N-éthyl lutidone :



3 g du composé d'addition sont dissous dans 5 cm³ de xylène bouillant et chauffés 3 heures à reflux au bain d'huile. Après refroidissement, des cristaux se déposent (1,5 g).

Par concentration des eaux mères, on récupère 0,5 g de la même substance, ce qui donne un rendement total de 65 p. 100.

On purifie ces cristaux dans le xylène. Ils fondent une première fois entre 80° et 85°, se solidifient et fondent à nouveau à 164°-165°. Spectre U.-V. (Planche XII).

Nous avons observé le fait suivant :

Le poids d'un échantillon de la substance augmente lorsque, le retirant d'un exsiccateur à vide phosphorique, on l'abandonne à l'air libre (193 mg gagnent 66 mg). Inversement, il reprend son poids primitif après avoir séjourné quelques heures dans l'exsiccateur (259 mg perdent 66 mg). La variation est de 25,5 p. 100 du poids du corps abandonné à l'air.

Supposant que le corps étudié correspondait à la formule ci-dessus mais s'hydratait à l'air, nous avons cherché quel nombre de molécules d'eau représentait le taux d'hydratation signalé.

Pour un gain de trois molécules la variation serait de 26,3 p. 100.

A 1 p. 100 près, la valeur calculée est égale à la valeur trouvée.

Le dosage de l'azote confirme ce résultat et la valeur trouvée correspond à l'hydrate :

Calculé : N, 6,82. — Trouvé : N, 7,05.

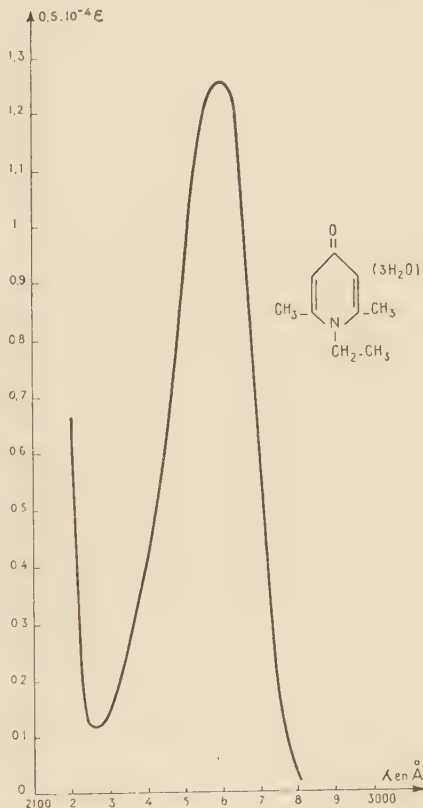


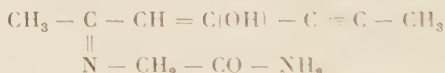
PLANCHE XII.

2° Nous venons de montrer que la N carboxy, méthyl-méthyl lutidone donne par dégradation le produit attendu.

Nous allons apporter un nouvel argument en faveur du procédé qui a permis de l'obtenir : en effet, par la même voie nous avons préparé un produit déjà connu : la N-carboxyméthyl lutidone.

B. — Isomérisation de l'adduct de la dipropynylcétone et de l'amide du glycolle.

a) Préparation du composé d'addition de la dipropynylcétone et de l'amide du glycolle :



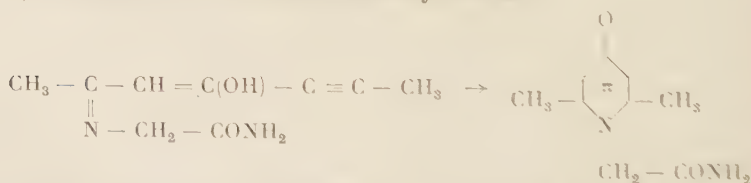
Nous avons préparé tout d'abord le chlorhydrate du glycylamide ¹⁴. 3,5 g de chloracétamide en suspension dans 500 cm³ d'ammoniac sont introduits dans un ballon refroidi par un bain de glace et muni d'une agitation. On concentre à sec sous vide. Le résidu se dissout facilement dans 50 cm³ d'eau et par addition d'alcool absolu (500 cm³) on obtient un précipité. Après avoir abandonné le ballon quelques heures dans un mélange réfrigérant, on essore le produit. Rdt : 50 p. 100.

A 1,1 g (1/100 de mol.) du chlorhydrate de l'amide du glycolle on ajoute un équivalent (0,53 g) de carbonate de soude. Le chlorure de sodium précipite par addition de 25 cm³ d'alcool absolu. On l'élimine par filtration et dans le filtrat on dissout 1,06 g de dipropynylcétone. Après quelques instants un précipité cristallin apparaît. Il est lavé à l'eau et séché dans un exsiccateur à vide. Rdt : 1 g (55 p. 100).

On le recrystallise dans l'éthanol. P. F. : 215°.

Anal. (C₉H₁₂O₂N₂ : 180,20) : Calc. p. 100 : C, 59,92 ; H, 6,60 ; N, 15,54. — Tr. : C, 60,30 ; H, 7,09 ; N, 15,58.

b) Isomérisation en N-carboxamidométhyl lutidone :



On met 1 g du composé d'addition en suspension dans 25 cm³ d'ami-sol additionné de 10 gouttes de triton B. On chauffe 3 heures à reflux. Le produit est essoré. Bien qu'apparemment il n'y ait pas de dissolution, le composé d'addition s'est transformé. Rdt : quantitatif.

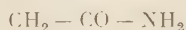
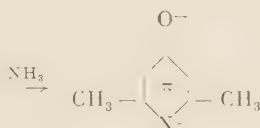
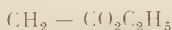
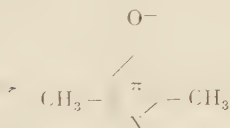
⁽¹⁴⁾ H. BERGELL, Z. *Physiol. Chem.*, 1910, **64**, 35

Remarque. — Au moment où nous avons fait cette expérience, nous n'avions pas encore utilisé le diméthylformamide, mais les essais précédemment décrits ont montré que dans le cas de l' α -alanine le corps issu de l'anisol et celui issu du diméthylformamide sont identiques. On le purifie dans l'eau bouillante.

Le point de fusion, très élevé, n'est pas net : il est supérieur à 320° .

Anal. ($C_9H_{12}O_2N_2$: 180,20) : Calc. p. 100 : C, 59,92 ; H, 6,60 ; N, 15,54. — Tr. : C, 59,80 ; H, 6,50 ; N, 15,64.

Nous avons identifié ce corps avec la N-carboxamidométhyl lutidone préparée par une autre voie : isomérisation dans le xylène du composé d'addition de la dipropynylcétone et du glycollate d'éthyle et action de l'ammoniac sur la N-éthylcarboxyméthyl lutidone ainsi obtenue :



1 g de la N-éthylcarboxyméthyl lutidone est dissous dans 5 cm³ de méthanol saturé à 0° d'ammoniac (voir (13)). Au bout de quelques heures un précipité apparaît. On l'essore après 12 heures de contact. Rdt : 0,83 g (83 p. 100).

Les cristaux obtenus sont purifiés dans l'eau bouillante.

Le point de fusion est supérieur à 320° .

Anal. : Calc. p. 100 : N, 15,54. — Tr. : N, 15,84.

Les spectres d'absorption en lumière ultraviolette des solutions des deux corps à comparer coïncident (Planche XIII).

L'analyse et les spectres permettent donc de conclure en faveur de l'identité des deux corps.

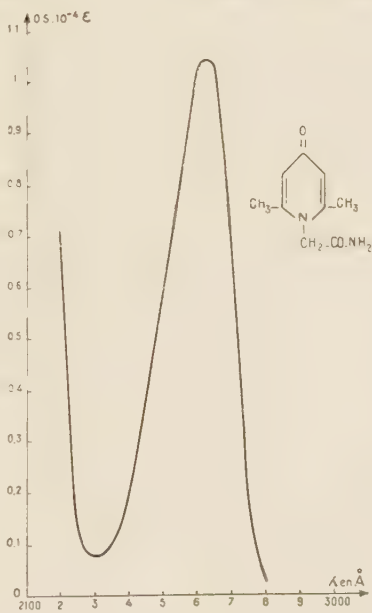


PLANCHE XIII.

C. — Isomérisation de l'adduct de la dipropynylcétone et de l'amide de la phénylalanine. — Le procédé utilisé est le même que celui qui nous a permis d'isomériser le composé d'addition de la cétone et de l'amide de l'alanine.

Préparation de l'amide de la phénylalanine. — On a utilisé indifféremment l'un ou l'autre des procédés suivants :

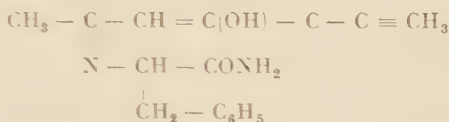
a) celui déjà utilisé pour préparer l'amide de l'alanine ;

b) (15).

5 g du chlorhydrate de l'ester éthylique de la phénylalanine sont mis en suspension dans 75 cm³ d'une solution d'ammoniaque du commerce et abandonnés une nuit à la température ordinaire.

Le précipité cristallin est essoré. Rdt : 2.2 g. P. F. : 138°-139°.

Préparation de l'adduct :

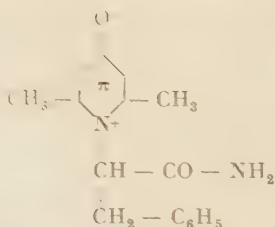


A 3 g d'amide partiellement dissous dans 35 cm³ de méthanol, on ajoute une solution de 1.94 g de dipropynylcétone dans 29 cm³ de méthanol. La dissolution est alors totale. Au bout de quelques instants un produit blanc cristallin précipite. On le lave à l'éther. Rdt : 3 g (60 p. 100).

Il est purifié par recristallisation dans le méthanol. P. F. : 198°.

Anal. (C₁₆H₁₈O₂N₂) : Calc. p. 100 : C, 71.08 ; H, 6.71 ; N, 10.36. — Tr. : C, 71.16 ; H, 6.75 ; N, 10.31.

Isomérisation en la N(carboxamido, benzyl)-méthyl luidione :



1 g du composé d'addition est dissous à chaud dans 5 cm³ de diméthylformamide additionné de 10 gouttes de triton B et chauffé 3 heures

à 150°. Un précipité apparaît au bout de quelques minutes. Rdt : 0,500 g (50 p. 100).

Le produit est recristallisé dans un mélange eau-éthanol (1-1).

Le point de fusion est supérieur à 320° et peu net.

Anal. ($C_{16}H_{18}O_2N_2$; 270,32) : Calc. p. 100 : C, 71,11 ; H, 6,78 ; N, 10,11. — Tr. : C, 70,82 ; H, 6,70 ; N, 10,11.

La courbe d'absorption en lumière ultraviolette est celle d'une lutidone N-substituée (Planche XIV).

Remarque. — Nous avons obtenu la N(carboxamido, benzyl)-méthyl lutidone par chauffage à sec du composé d'addition vers 230°, sans catalyseur.

0,5 g de l'adduct est chauffé dans un tube à essai plongé dans un bain métallique à 230°. Après quelques secondes, une vive réaction, accompagnée d'un dégagement gazeux, se produit. Après refroidissement, il reste dans le tube une masse noire et compacte. On la traite à ébullition par un mélange de xylène et d'alcool et on essore le produit solide. Rdt : 75 à 100 mg (15 à 20 p. 100).

Il est recristallisé dans un mélange hydroalcoolique 1-1.

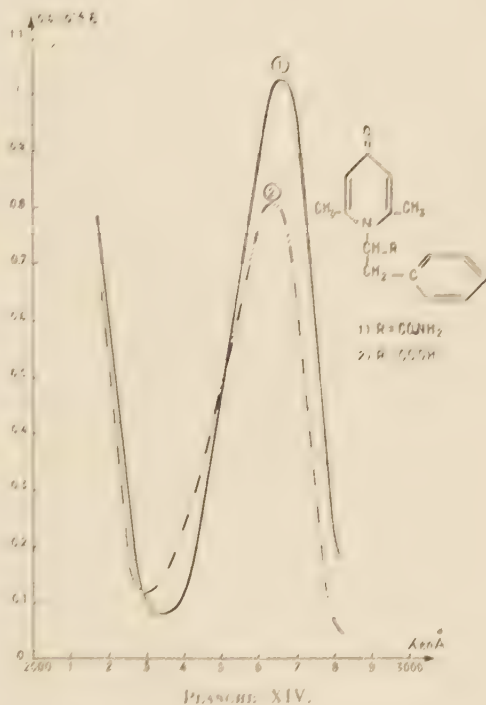
Le point de fusion est supérieur à 320°.

Anal. : Tr. p. 100 : C, 71,18 ; H, 7,25 ; N, 10,48.

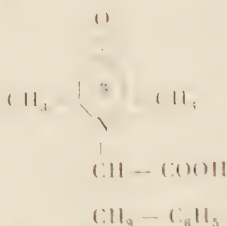
La courbe d'absorption est superposable à celle du produit obtenu par chauffage de l'adduct dans le diméthylformamide en présence de catalyseur.

Ces résultats permettent de conclure à l'identité des deux corps.

Hydrolyse. — Dans le but de rechercher un nouvel élément en faveur de la structure proposée, nous avons hydrolysé la N(carboxamido,



benzyl)-méthyl lutidone et obtenu un produit dont l'analyse donne les résultats attendus.



Une solution de 0,903 g du produit étudié dans 5 cm³ d'acide chlorhydrique concentré est chauffée 7 heures à reflux. Après élimination de l'eau et de l'acide par concentration sous vide, l'hydrolysât est dissous dans 20 cm³ d'eau.

On dose, par déplacement, l'ammoniac formé par hydrolyse à l'état de chlorure d'ammonium.

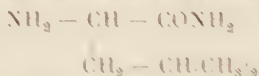
Azote, calculé pour 1 cm³ de solution : 2,29 mg. Trouvé : 2,39 mg.

On en conclut que l'hydrolyse est totale.

La solution précédente, diluée à 200 cm³, est traitée par un excès d'hydroxyde de plomb fraîchement précipité et portée 12 heures à ébullition. On filtre et on précipite le plomb à l'état de sulfure par passage d'un courant de SH₂. On filtre et on concentre sous vide. Vers la fin de la concentration un produit blanc cristallise. On le purifie dans un mélange eau-méthanol 2/1. P. F. : 229°-231°.

Anal. (C₁₆H₁₇O₃N : 271,30) ; Calc. p. 100 : C, 70,62 ; H, 6,31 ; N, 3,10. — Tr. : C, 70,80 ; H, 6,20 ; N, 3,18.

D. — Isomérisation de l'adduct de la dipropynylectone et de l'amide de la leucine. — Préparation de l'amide de la leucine



10 g de leucine sont mis en suspension dans 100 cm³ d'éthanol saturé à 0° d'acide chlorhydrique sec et chauffés 12 heures à reflux. La solution est concentrée à sec.

On lave le résidu à l'éther et on l'abandonne dans un exsiccateur à vide potassique pour chasser les traces d'acide chlorhydrique non combiné. Rdt : 11,5 g.

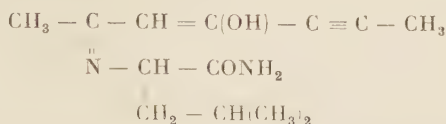
On le recristallise dans l'acétone. Le chlorhydrate est identifié par son point de fusion. P. F. : 112°.

8,5 g du chlorhydrate sont dissous dans 15 cm³ de méthanol. On ajoute 5 g de triéthylamine et 350 cm³ d'éther. Le chlorhydrate de triéthylamine précipite. On filtre et on concentre à sec sous vide. Le résidu sirupeux est dissous dans 100 cm³ de méthanol saturé d'ammoniac à 0°.

Après trois jours, on concentre à nouveau à sec. Il reste dans le ballon, l'amide cristallisée. Rdt : 4,5 g (67 p. 100).

On la recristallise dans l'alcool. P. F. : 106°-107°.

Préparation du composé d'addition :

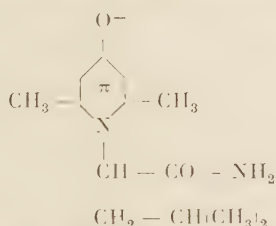


A 1 g d'amide dissous dans 3 cm³ de méthanol on ajoute une solution de 0,8 g de dipropynylcétone dans 5 cm³ d'éthanol tiède. Un produit précipite à l'état cristallin. Rdt : 1,5 g (83 p. 100).

On le recristallise dans l'éthanol. P. F. : 188°-190°.

Anal. (C₁₂H₂₀O₂N₂ : 224,44) : Calc. p. 100 : C, 66,06 ; H, 8,53 ; N, 11,85. — Tr. : C, 66,38 ; H, 8,21 ; N, 11,87.

Isomérisation en N(carboxamido, isobutyl)-méthyl lutidone :

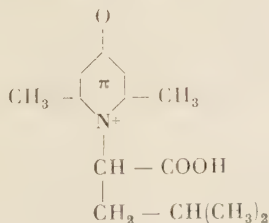


1 g du produit d'addition est dissous dans 5 cm³ de diméthylformamide additionné de 10 gouttes de triton B et chauffé 3 heures à reflux à 150° au bain d'huile. Par refroidissement un produit cristallise. Rdt : 400 mg (40 p. 100).

On le recristallise dans un mélange hydroalcoolique. P. F. : 286°-290° (déc).

Anal. (C₁₂H₂₀O₂N₂) : Calc. p. 100 : C, 66,06 ; H, 8,52 ; N, 11,85. — Tr. : C, 65,74 ; H, 8,21 ; N, 11,87.

Hydrolyse en N(carboxy, isobutyl)-méthyl lutidone :

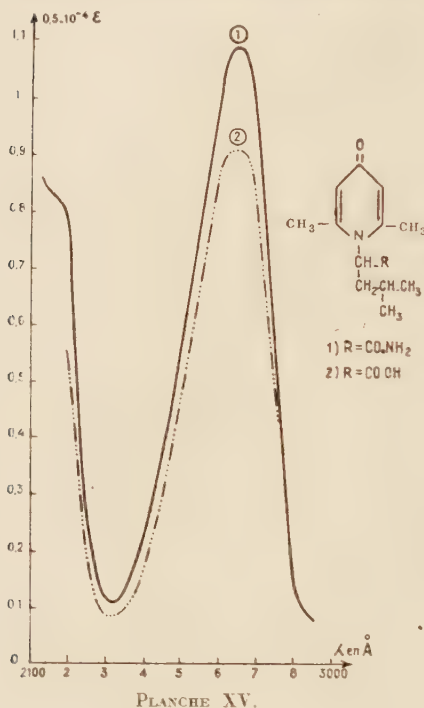


2,2 g de la N(carboxamido, isobutyl)-méthyl lutidone sont dissous dans 10 cm³ d'acide chlorhydrique concentré et chauffés 3 heures à

reflux. On concentre à sec sous vide. On reprend par 3 cm³ d'eau et on concentre à nouveau.

Cette opération est répétée jusqu'à élimination de l'acide chlorhydrique.

Après avoir vérifié par dosage de l'ammoniac que l'hydrolyse est totale on traite une solution aqueuse (100 cm³) du résidu par un excès d'oxyde de plomb fraîchement préparé et on chauffe 1/2 heure à reflux. Après filtration, on élimine le plomb à l'état de sulfure de plomb. On concentre à sec. Le résidu cristallin est purifié dans le méthanol. P. F. : 250°-253° (déc.). Spectre U.-V. (Planche XV).

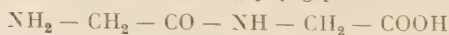


Anal. (C₁₂H₁₉O₃N : 225,27) :
Calc. p. 100 : C, 65,88 ; H, 8,02 ;
N, 5,90. — Tr. : C, 66,13 ; H, 8,00 ;
N, 6,20.

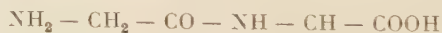
CHAPITRE IV

Isomérisation des composés d'addition de la dipropynylcétone et de dipeptides.

I. — Isomérisation de l'adduct de la dipropynylcétone et d'un dipeptide dont l'acide N-terminal ne porte pas de substituant en α de l'azote. — A) Cas de la glycylglycine :

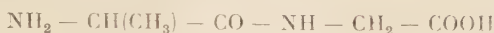


B) Cas de la glycylleucine :



L'adduct de la cétone et du sel de sodium du dipeptide s'isomérisé par chauffage dans l'eau.

II. — Isomérisation de l'adduct de la dipropynylcétone et d'un dipeptide dont l'acide N terminal porte un substituant en α de l'azote. — Cas de l'alanylglycine :



La présence d'un catalyseur est alors nécessaire.

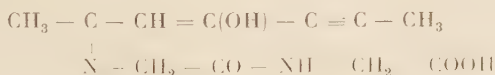
L'adduct de la cétone et de l'ester éthylique de l'alanylglycine se transpose en lutidone N-substituée par chauffage à 150° dans le diméthylformamide additionné de quelques gouttes de triton B.

Remarque. — L'adduct de la dipropynylcétone et de l'ester éthylique de l'alanylglycine étant cristallisé, contrairement aux adduits de la cétone et des esters éthyliques des acides α -aminés étudiés (autres que le glycolle), la transposition a été effectuée sans passer par la forme amide de l'adduct. Sa réussite montre que l'ester est suffisamment stable dans ces conditions.

Isomérisation du composé d'addition de la dipropynylcétone et du sel de sodium de la glycylglycine. — *a)* Préparation de l'adduct. — 1 g de glycylglycine est dissous dans 2 cm³ d'une solution de soude à 15 p. 100.

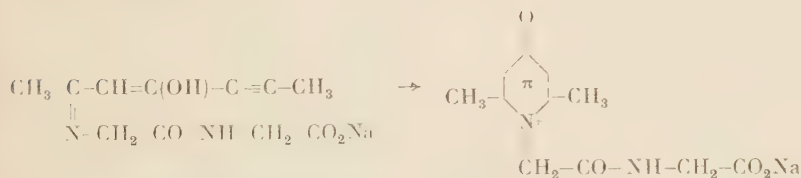
On lui ajoute 0,82 g de dipropynylcétone en solution dans le minimum d'éthanol. Deux ou trois heures après l'addition, on évapore les solvants sous vide. Au résidu dissous dans 8 cm³ d'alcool on ajoute goutte à goutte une solution d'acide chlorhydrique du commerce dilué au 1/3 jusqu'à pH = 3 environ (papier pH). Des cristaux précipitent. Ils sont lavés jusqu'à élimination des ions chlorures et séchés dans un exsiccateur à vide phosphorique. Rdt : 0,84 g (55 p. 100).

Le produit jaune clair est peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool. P. F. : 188°-189°.



Anal. (C₁₁H₁₁O₄N₂) : 238,23. ; Calc. p. 100 : C, 55,45 ; H, 5,90 ; N, 11,75. — Tr. : C, 55,34 ; H, 6,13 ; N, 11,52.

Isomérisation :



Nous avons opéré sans isoler intermédiairement l'adduct.

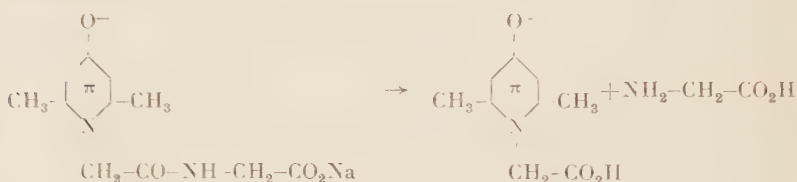
A 2 g de glycylglycine dissous dans 4 cm³ d'une solution de soude à 15 p. 100, on ajoute 1,60 g de dipropynylcétone dans l'alcool éthylique.

Après avoir évaporé les solvants sous vide, on dissout le résidu dans 8 cm³ d'eau et on chauffe à reflux 4 heures. On évapore l'eau sous vide jusqu'à environ 2 cm³. Par addition d'acide chlorhydrique dilué au 1/3 jusqu'à pH : 4 (papier pH) on obtient des cristaux. Rdt : 30 p. 100 (0,93 g).

On les recrystallise dans l'eau bouillante dans laquelle ils sont beaucoup plus solubles que dans l'eau froide. On obtient un produit cristallin blanc qui fond entre 300°-310° (d). Spectre U.-V. Planche XVI).

Anal. (C₁₁H₁₄O₄N₂) : Calc. p. 100 ; C, 55,45 ; H, 5,90 ; N, 11,75. — Tr. : C, 55,52 ; H, 5,06 ; N, 11,82.

Hydrolyse :



43 mg sont dissous dans 3 cm³ chlorhydrique 6 N et chauffés à reflux 8 heures.

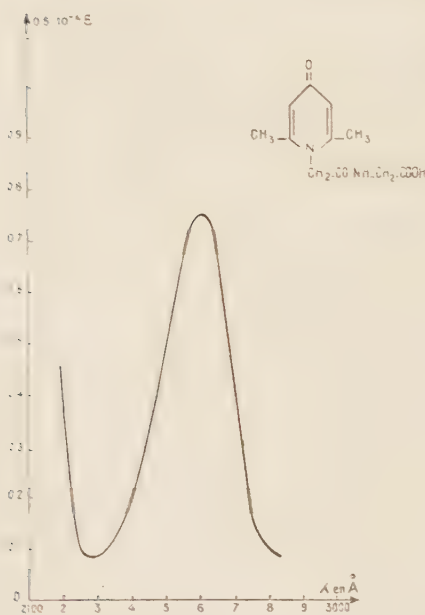


PLANCHE XVI.

On évapore sous vide les solvants. On redissout le résidu dans 2 cm³ d'eau que l'on évapore à nouveau. L'opération est répétée une vingtaine de fois pour que l'acide chlorhydrique soit éliminé. On reprend enfin le résidu par 5 cm³ d'eau.

Chromatographie. — La chromatographie de partage sur papier Durieux a permis d'analyser cet hydrolysate.

Par ce procédé on a séparé et mis en évidence les deux corps que l'équation précédente faisait attendre : la N-carboxyméthyl lutidone et le glycocolle.

Le chromatogramme a été développé au butanol acétique selon le procédé décrit précédemment. Les quantités de produits déposées sont de l'ordre de 15 à 20 millionièmes de gramme.

a) La N-carboxyméthyl lutidone a été révélée par photographie du chromatogramme en lumière ultraviolette. R_f : 0,57.

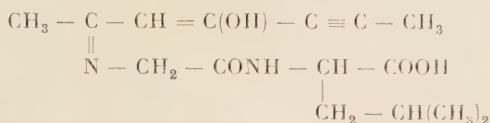
b) Le glycolle a été révélé par projection sur le chromatogramme d'une solution de ninhydrine dans le butanol acétique.

Isomérisation du composé d'addition de la dipropynylcétone et du sel de sodium de la glycylléucine. — Le processus est le même que précédemment.

Préparation du composé d'addition de la dipropynylcétone et du sel de sodium de la glycylléucine.

Glycylléucine	1 g
Soude	0,21 g (2 cm ³ de solution)
Dipropynylcétone.	0,56 g

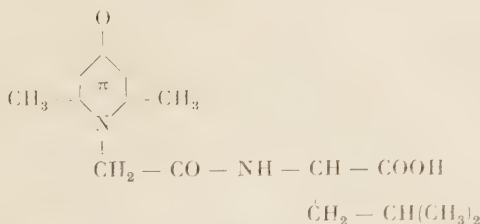
Rdt : 0,95 g (62 p. 100). P. F. : 169°-172°.



Anal. (C₁₅H₂₂O₄N₂) : Calc. p. 100 : C, 61,20 ; H, 7,53 ; N, 9,51.
Tr. : C, 61,17 ; H, 7,60 ; N, 9,63.

Isomérisation. — Après avoir mélangé une solution de 2 g de dipeptide additionnée de 4 cm³ d'une solution de soude à 21 p. 100 à une solution alcoolique de 1,12 g de dipropynylcétone, on chasse les solvants. Le résidu est dissous dans 8 cm³ d'eau et chauffé à reflux pendant 4 heures. On concentre à 2 cm³ environ.

Après addition d'acide chlorhydrique jusqu'à pH = 4 environ, des cristaux précipitent (en ajoutant un excès d'acide, on obtient le chlorhydrate). On les recristallise dans un mélange hydroalcoolique. Rdt : 35 p. 100 (0,9 g). P. F. : 305°-310° (d) :



Anal. (C₁₅H₂₂O₄N₂) : Calc. p. 100 : C, 61,20 ; H, 7,53 ; N, 9,63.
Tr. : C, 61,10 ; H, 7,22 ; N, 9,55.

Spectre U.-V. (Planche XVII).

tement ajouté la solution de cétone à celle du produit supposé être l'ester éthylique. L'analyse du composé d'addition cristallin justifie notre hypothèse à cet égard.

Préparation du chlorhydrate de l'ester éthylique de l'alanylglycine. — 5 g d'alanylglycine sont dissous dans 100 cm³ d'éthanol absolu saturé de gaz chlorhydrique sec. La solution est chauffée à reflux au bain-marie 1/2 heure. On évapore à sec sous vide et on chasse l'acide chlorhydrique non combiné en dissolvant le résidu dans 30 cm³ d'alcool absolu et évaporant sous vide. L'opération est répétée une dizaine de fois. Abandonné dans un vide potassique, pendant une semaine, le sirop restant se transforme en une poudre. Rdt : 5,7 g.

On dissout cette poudre dans 15 cm³ de méthanol. Par addition de 3 g de triéthylamine, puis addition de 200 cm³ d'éther sec et filtration, on élimine l'ion chlore à l'état de chlorhydrate de triéthylamine.

Aux 3 g de sirop obtenu (Rdt : 50 p. 100), on ajoute 1,6 g de dipropynylcétone en solution dans l'alcool. On évapore à 3 cm³ environ et, par addition d'eau, un produit cristallise. Rdt : 2 g (42 p. 100).

On le purifie par dissolution dans l'alcool et addition d'eau. P. F. : 160°.

Anal. (C₁₄H₂₀O₄N₂ : 280,31) : Calc. p. 100 : C, 59,98 ; H, 7,19 ; N, 9,99. — Tr. : C, 60,00 ; H, 7,34 ; N, 10,00.

Isomérisation. — On chauffe 3 heures à reflux une solution de 0,9 g de l'adduct dans 5 cm³ de diméthylformamide additionné de 3 gouttes d'hydroxyde de triméthylbenzylammonium.

Par refroidissement, on obtient des cristaux que l'on recristallise dans l'éthanol. Rdt : 30 p. 100. P. F. : 209°.

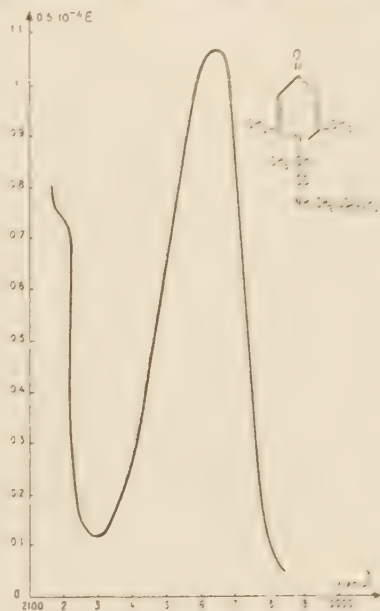
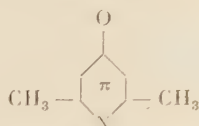
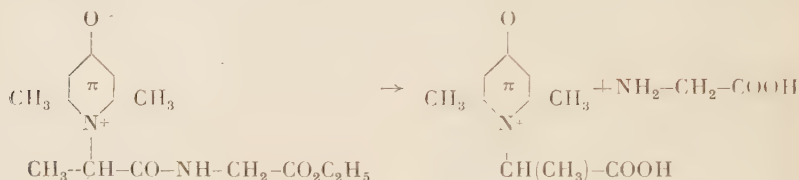


PLANCHE XVIII

Anal. ($C_{13}H_{20}O_4N_2$) : Calc. p. 100 : C, 59,98 ; H, 7,19 ; N, 9,99. — Tr. : C, 60,26 ; H, 7,54 ; N, 10,33.

Spectre U.-V. (Planche XVIII).

Hydrolyse. — Le procédé est le même que dans les deux cas précédents.



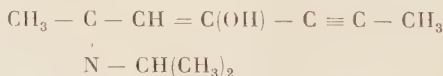
Chromatographie. — Nous retrouvons sur le chromatogramme de l'hydrolysats les deux corps attendus :

- la N(carboxy, méthyl)-méthyl lutidone. $R_f = 8,68$;
- la glycine.

CHAPITRE V

Isomérisation du composé d'addition de la dipropynylcétone et d'une amine simple portant un groupement méthyl en α de l'azote.

Isomérisation du composé d'addition de la dipropynylcétone et de l'isopropylamine. a) Préparation du composé d'addition. — En ajoutant une solution alcoolique de dipropynylcétone à une solution alcoolique d'isopropylamine, Mlle Chauvelier a obtenu un corps cristallisé fondant à 39°.



Nous avons préparé ce corps et l'avons identifié par son point de fusion.

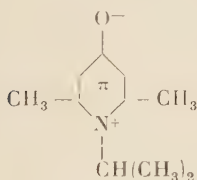
b) Isomérisation du composé d'addition. — Mlle Chauvelier a constaté qu'il ne s'isomérisé pas dans les conditions habituelles, c'est-à-dire par chauffage dans le xylène.

En présence d'un catalyseur, cette transposition est possible.

2 g de l'adduct recristallisé deux fois dans un mélange éther-éther de pétrole sont dissous dans 5 cm³ de diméthylformamide additionné de 10 gouttes de triton B. La solution est chauffée 3 heures au bain d'huile à 150° (au bout de quelques secondes, le liquide devient brun). Le solvant est évaporé sous vide ; il reste dans le ballon un produit brun cristallisé ; après recristallisation dans le xylène, on obtient des cristaux encore fortement colorés. Le moyen le plus efficace pour les décolorer a été leur traitement au noir animal en milieu aqueux. L'eau est alors éliminée par évaporation.

Deux recristallisations, la première dans le xylène, la seconde dans un mélange cyclohexane-acétone, ont donné de belles aiguilles blanches. Ces aiguilles sont très solubles dans l'eau et deviennent déliquescents si on les abandonne à l'air humide. Rdt 1,3 g (63 p. 100).

P. F. : Le corps obtenu fond une première fois entre 49° et 53°, puis se solidifie et fond à nouveau à 133°.



L'analyse a eu lieu sur le produit venant d'un exsiccateur à vide, les pesées étant effectuées rapidement.

Anal. (C₁₀H₁₅ON : 165,22) : Calc. p. 100 : C, 72,68 ; H, 9,09 ; N, 8,48. — Tr. : C, 72,68 ; H, 9,05 ; N, 8,60.

Spectre U.-V. (Planche XIX).

Les courbes montrent que le spectre d'absorption de la N-éthyl lutidone et celui de la N-isopropyl lutidone coïncident exactement entre 2 300 et 2 800 Å.

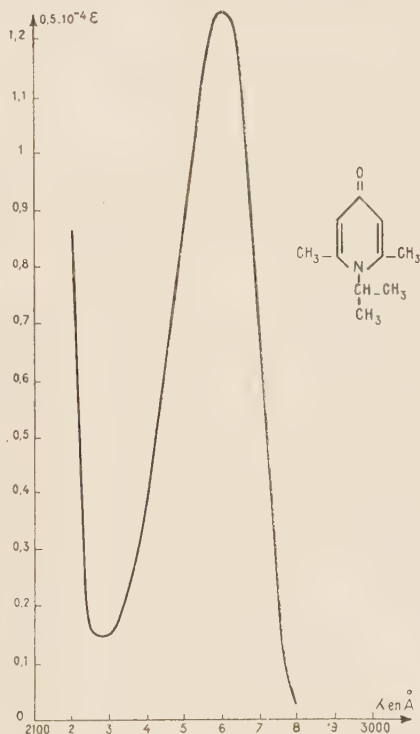


PLANCHE XIX.

CONCLUSION

Au cours de ce travail nous avons étudié :

1° L'addition de la dipropynylcétone sur les amino-acides.

Nous avons isolé à l'état cristallin les composés d'addition de la cétone et :

- a) des acides aminés libres
- b) de leurs sels de calcium,
- c) de leurs sels de sodium, dans quelques cas seulement.

2° La transposition des composés d'addition en lutidone N-substituée.

Celle-ci s'est révélée beaucoup plus délicate que dans le cas des composés d'addition d'amines simples.

a) Nous avons montré que l'on peut isomériser dans l'eau les composés d'addition de la cétone et des sels de sodium d'acides aminés ne portant pas de substituant en α de l'azote : glycocolle, β -alanine, acide ε -amino-caproïque.

Cette réaction ne permet pas d'obtenir de quantité appréciable du produit cherché dans le cas où l'acide aminé est substitué en α de l'azote.

b) L'étude des facteurs de transposition dans le cas du composé d'addition du glycocolle nous a permis de montrer que les conditions de pH ont une grande importance et qu'un pH alcalin est nécessaire pour que la réaction aboutisse à la formation de lutidone N-substituée cherchée.

Cependant, cette condition nécessaire n'est pas suffisante dans le cas des amino-acides portant un groupement en α de l'azote.

c) Devant cet échec, nous avons tenté de résoudre le problème en étudiant l'addition de la dipropynylcétone sur les amides de ces acides aminés et la transposition des composés ainsi obtenus.

Dans tous les cas étudiés, l'addition a lieu très aisément et les adducts obtenus sont remarquablement stables. Ils peuvent, sans décomposition appréciable, subir des chauffages prolongés à des températures relativement élevées (150°). Mais dans ces conditions, qui normalement sont celles utilisées pour la transposition des adducts d'amines simples, il n'est pas possible d'observer la formation de lutidones N-substituées correspondantes.

d) C'est pourquoi nous avons étudié systématiquement la transposition des adducts d' α -amino-amides.

Nous avons pu montrer que le triton B, hydroxyde de benzyltriméthylammonium, est un bon catalyseur de la réaction dans certaines limites de température.

Des essais multiples nous ont permis de constater que le diméthylformamide semble être un solvant de choix pour ces opérations.

e) A partir des lutidone-amides ainsi obtenus, nous avons préparé les lutidone-acides correspondants, mettant ainsi au point une méthode de préparation de ces substances.

Dans plusieurs cas, nous avons prouvé la structure d'une lutidone N-substituée soit par comparaison avec le même produit obtenu par une autre voie, soit par identification du produit de dégradation (cas de la N(carboxamido, méthyl)-méthyl lutidone).

3° Grâce à la technique ainsi mise au point, nous avons pu réaliser, d'abord, l'addition de la dipropynylcétone sur l'azote aminé terminal de quelques dipeptides, puis la transposition.

L'hydrolyse du produit ainsi obtenu nous a permis de mettre chromatographiquement en évidence les acides-lutidone carboxyliques correspondant aux amino-acides à groupement NH_2 libre dans les peptides étudiés.

4° L'intérêt du triton B comme catalyseur et du diméthylformamide comme solvant dans des réactions de ce type a pu être démontré dans le cas de l'isopropylamine.

En effet, cette amine donne un composé d'addition qui jusqu'à ce jour n'avait pu être transposé en N-isopropyl lutidone, quelles que soient les conditions opératoires.

L'emploi de notre technique nous a permis de réaliser cette transposition et d'obtenir la N-isopropyl lutidone.

(Laboratoire de Chimie organique

(Professeur PRÉVOST)

Faculté des Sciences, Paris).

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Application des spectres infra-rouges
à l'étude de la stéréochimie.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 12 mai 1957.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

J. PÉRÈS.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

JEAN SARRAILH.

